

Cryptosporidium parvum
vasikkaripulin aiheuttajana

Eläinlääketieteen lisensiaatintutkielma

Sanni Takala

Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

2019



Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare – Author Sanni Takala			
Työn nimi - Arbetets titel – Title <i>Cryptosporidium parvum</i> vasikkaripulin aiheuttajana			
Oppiaine - Läroämne – Subject Tuotantoeläinten terveyden- ja sairaanhoito			
Työn laji - Arbetets art – Level Lisensiaatintutkielma (kirjallisuuskatsaus)		Aika - Datum - Month and year Toukokuu 2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 49 sivua
<p>Tiivistelmä - Referat – Abstract</p> <p>Tämä lisensiaatintutkielma on kirjallisuuskatsaus <i>Cryptosporidium parvum</i> -alkueläimestä vasikkaripulin aiheuttajana. Viime vuosina kryptosporidioosin esiintyvyys suomalaisilla nautatiloilla on kasvanut. Vaikka kryptosporidioosi aiheuttaa taloudellisia tappioita, ei aiemmin ole tiettävästi tehty kattavaa kirjallisuuskatsausta vasikoiden kryptosporidioosista.</p> <p>Kryptosporidioosi on <i>C. parvum</i> -alkueläimen aiheuttama sairaus. Tyypillisesti kryptosporidioosiin sairastuvat 1-2 viikon ikäiset vasikat. Vasikka saa tartunnan nieltään keskimäärin 16,6 <i>C. parvum</i> -ookystaa, joita tartunnan saaneet vasikat erittävät ulosteeseensa. Kryptosporidioosin oireena on 1-2 viikkoa kestävä vetinen ripuli. Vakavimmiillaan kryptosporidioosin aiheuttama ripuli voi aiheuttaa vasikan kuoleman. Kryptosporidioosi voi olla vasikoilla myös oireeton, jolloin vasikalla ei ole ripulia, mutta se erittää ookystia ympäristöönsä. Ookystien erityis laskee iän myötä. Aikuiset naudat joko eivät eritä <i>C. parvum</i> -ookystia lainkaan tai ne erittävät ookystia hyvin vähän.</p> <p><i>C. parvum</i> -tartunta leviää karjasta toiseen joko nautojen, muiden kotieläinten, villieläinten, vesistöjen tai ihmisten välityksellä. Ookystat säilyvät ympäristössä pitkään tartuntakykyisinä monenlaisissa olosuhteissa. Ympäristöolosuhteista ainoastaan korkeiden lämpötilojen, kuivumisen sekä UV-säteilyn on todettu tehokkaasti tuhoavan ookystia. Useat desinfektioaineet eivät tehoa <i>C. parvum</i> -ookystiin. Desinfioinnissa käytettävä sammutettu kalkki heikentää ookystien elinvoimaisuutta, myöhentää kliinisen kryptosporidioosin alkamisajankohtaa ja parantaa vasikoiden kuntoluokkaa.</p> <p>Kryptosporidioosiin tehoavaa lääkettä ei ole saatavilla useista tutkimuksista huolimatta. Kryptosporidioosin hoidossa keskeisintä on riittävä ja asianmukainen nesteytys. Kryptosporidioosin ehkäiseminen perustuu sairastuneiden yksilöiden hoitoon, hyvään hygieniaan sekä halofuginaatti-lääkitykseen. Halofuginaatti on lääke, jota käytetään kryptosporidioositiloilla kliinisen kryptosporidioosin ennaltaehkäisyyn. Myös riittävä ja oikea-aikainen ternimaidon saanti lieventää ripulioireita sekä vähentää eritettyjen ookystien määrää.</p> <p>Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on toimia tietolähteenä vasikoiden kryptosporidioosista. Katsaus käsittää <i>C. parvum</i>in elämänkierron, tartuntalähteet, diagnostiikan, hoidon sekä kryptosporidioosin ehkäisemisen. Kappaleet sisältävät tiivistettynä tämänhetkisen tutkimustiedon. Lisätietoa aihealueista voi etsiä kattavan lähdeluettelon avulla. Kirjallisuuskatsaus tuo esiin myös tarpeen kotimaiselle tutkimukselle vasikoiden kryptosporidioosista, sillä suomalaisia tutkimuksia aiheesta ei ole.</p>			
Avainsanat - Nyckelord – Keywords <i>Cryptosporidium parvum</i> , kryptosporidioosi, vasikka, vasikkaripuli, zoonoottisuus			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Työn johtaja: Timo Soveri Työn ohjaaja: Helena Rautala			

SISÄLLYS

1 JOHDANTO.....	1
2 <i>CRYPTOSPORIDIUM PARVUM</i>	3
2.1 Elämänkierron päävaiheet.....	3
2.2 Patofysiologia.....	4
2.3 Naudan kryptosporidioosi.....	5
2.4 Vasikan kryptosporidioosi.....	6
2.5 Immunitetti.....	8
2.6 Zoonoottinen merkitys.....	9
3 TARTUNTA.....	10
3.1 Riskitekijät tartunnalle.....	11
3.2 Tartuntalähteet.....	11
3.2.1 Ympäristö.....	12
3.2.2 Naudat.....	13
3.2.3 Muut eläinlajit.....	13
3.2.4 Ihmiset.....	15
4 DIAGNOSTIIKKA.....	16
4.1 Diagnostiikka suomalaisissa laboratorioissa.....	17
4.2 Pikatestit.....	17
5 HOITO.....	19
5.1 Antibiootit.....	19
5.2 Kokkidiostaatit.....	20
5.3 Inhibiittorit.....	21

5.4 Halofuginaatti.....	22
5.5 Nestehoito.....	23
6 KRYPTOSPORIDIOOSIN EHKÄISEMINEN.....	25
6.1 Halofuginaatti.....	25
6.2 Rokotukset.....	27
6.3 Managementti.....	28
6.3.1 Ternimaito.....	29
6.4 Ympäristön desinfektio.....	30
6.4.1 Suomessa käytettävät desinfektioaineet.....	31
7 POHDINTA.....	32
8 LÄHDELUETTELO.....	38

1 JOHDANTO

Vasikan kryptosporidioosi on *Cryptosporidium parvum* -alkueläimen aiheuttama ruuansulatuskanavan sairaus, jonka tyypillinen oirekuva on vetinen ripuli (katsauksessa Wyatt ym. 2010, Delafosse ym. 2015, Mawly ym. 2015, katsauksessa Thomson ym. 2017). Ripuli kestää noin 1-2 viikkoa (katsauksessa Thomson ym. 2017). Kryptosporidioosin vakavuus vaihtelee suuresti yksilöiden välillä: osa vasikoista on oireettomia toisten kuollessa tartunnan seurauksena (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Vasikoiden lisäksi *C. parvum* -tartuntaa tavataan muun muassa ihmisillä (Jaakola ym. 2018), koirilla, kissoilla (katsauksessa Bowman ja Lucio-Forster 2010), hevosilla (Galuppi ym. 2015) ja jyrсийöillä (Smith ym. 2014). *C. parvum* voi tarttua eri eläinlajeista toiseen (Diaz ym. 2018), mutta myös eläimistä ihmiseen (Jaakola ym. 2018). *C. parvum* on siis zoonoottinen taudinaiheuttaja, jonka merkitys erityisesti vasikoita hoitavilla ihmisillä on ollut viime vuosina kasvussa (Jaakola ym. 2018).

C. parvum -ookystat ovat erittäin kestäviä ja säilyvät ympäristössä pitkään säilyttäen taudinaiheutuskykynsä (Robertson ym. 1992). Ympäristövälikteisistä epidemioista *C. parvum*in tiedetään aiheuttaneen ihmisillä muun muassa vesivälikteisiä epidemioita (Smith ja Rose 1998). Uusimman tutkimustiedon mukaan myös naudoilla *C. parvum*in vesivälikteinen leviäminen on mahdollista (Lewerin ym. 2019).

C. parvum aiheuttaa tuotostappioita sekä hyvinvointiongelmia karjatiloiilla maailmanlaajuisesti. Viime vuosina kryptosporidioosin esiintyvyyttä karjoissa on tutkittu useissa eri maissa (Santin ym. 2004, Santin ym. 2008, Mirzai ym. 2014, Björkman ym. 2015, Mawly ym. 2015, Manyazewal ym. 2018, Naquib ym. 2018, Santoro ym. 2018). Myös suomalaisissa karjoissa *C. parvum* -alkueläimen merkitys on noussut huomattavasti, sillä viimeisen kymmenen vuoden aikana *C. parvum* -tartuntojen arvioidaan lisääntyneen noin 30 prosenttiyksikköä (Ruokavirasto 2019b).

Tämä lisensiaatintutkielma on kirjallisuuskatsaus *C. parvum* -alkueläimestä vasikkaripulin aiheuttajana. Työn tavoitteena on koostaa tämänhetkinen tieto aiheesta sekä tarjota kattava suomenkielinen tietopaketti vasikoiden kryptosporidioosista. Tarkoituksena on käsitellä *C. parvum*in elinkierto tilalla tartunnasta diagnostiikan kautta hoitoon ja ennaltaehkäisyyn. Vaikka eri toimijat ovat tehneet ohjeistuksia kryptosporidioosista, ei ennen tätä tutkielmaa ole tiettävästi tehty suomenkielistä kirjallisuuskatsausta vasikoiden *C. parvum* -tartunnoista.

2 *Cryptosporidium parvum*

Alkueläimet eli Protozoat ovat eläinsoluja yksinkertaisempia yksisoluisia eukarioottisoluja, joiden kaikki toiminnot tapahtuvat yhdessä solussa eliön toimintojen monimutkaisuudesta riippumatta (Levine 1984). Protozoa-pääjaksoon kuuluva *Cryptosporidium parvum* on ruoansulatuskanavan infektoita aiheuttava *Cryptosporidium*-suvun alkueläin (Levine 1984). *Cryptosporidium* -suvun alkueläimet aiheuttavat maailmanlaajuisesti infektoita niin nisäkkäillä, linnuilla, matelijoilla kuin kaloillakin (Levine 1984). Näin ollen *Cryptosporidium* kuuluu myös selkärankaisten ruoansulatuskanavan infektoita aiheuttaviin kokkideihin (Levine 1984).

C. parvum on monimuotoinen alkueläin, jolla on useita eri isolaatteja eli täysin muista ryhmistä eristyneitä populaatioita (Xiao ym. 1999). Useilla eri eläinlajeilla on todettu *C. parvum* -tartuntoja (Xiao ym. 1999). Näillä eläinlajeilla on todettu eri isolaattien aiheuttama *C. parvum* -tartunta (Xiao ym. 1999). Naudoilla yleisimmin tavattu isolaatti on Ila - alleeli, mutta myös IIB -alleeli on todettu naudalla (Broglia ym. 2008).

2.1 Elämänkierron päävaiheet

C. parvum -alkueläimen elämänkiertoon kuuluu useita monimutkaisia vaihteita. *C. parvum* leviää eläimestä toiseen feko-oraalisena tartuntana (Taylor ym. 2007). Feko-oraalisessa tartunnassa infektoitunut eläin erittää ulosteensa mukana ympäristöön ookystaksi kutsuttua *C. parvum*in muotoa (Taylor ym. 2007). Ympäristöstä ookysta kulkeutuu eläimen suun kautta suolistoon aiheuttaen tartunnan uudella eläimellä (Taylor ym. 2007).

Uuden isäntäeläimen nielaistua ookystan se kulkeutuu suolistoon (Kosek ym. 2001, Taylor ym. 2007). Suolistossa suolahapon, sappihappojen tai mekaanisen ärsytyksen seurauksena ookystan sisällä olevat sporotsoiitit vapautuvat (Kosek ym.

2001, Taylor ym. 2007). Sporotsoiitit ovat *Cryptosporidiumin* kehitysmuotoja, jotka kykenevät suolen infektiin. Vapauduttuaan ookystan sisältä sporotsoiitit siirtyvät rehumassan mukana ohutsuoleen, jossa ne tunkeutuvat tyhjäsuolen loppuosan tai sykkärsuolen mikrovillusten epiteelisoluihin (Kosek ym. 2001, Taylor ym. 2007). Epiteelisoluissa sporotsoiitit muodostavat vakuolin eli solunsisäisen rakkulan. Vakuolissa sporotsoiitit kehittyvät ja lisääntyvät suvuttomasti muodostaen merotsoiitteja. Merotsoiitit vapautuvat vakuolista ja tunkeutuvat viereisiin epiteelisoluihin. Uusissa soluissa merotsoiitit jatkavat kehittymistään muodostaen joko tyyppin 1 tai 2 merontteja (Kosek ym. 2001). Tyyppin 1 merontit hajoavat tuottaen lisää merotsoiitteja, jotka tunkeutuvat jälleen uusiin epiteelisoluihin (Kosek ym. 2001). Tyyppin 2 merontit kehittyvät edelleen ja vapauttavat makrogametosyyttejä eli isoja sukusolun esisoluja tai mikrogametosyyttejä eli pieniä sukusolun esisoluja (Kosek ym. 2001). Suvullinen lisääntyminen tapahtuu mikrogametosyytin ja makrogametosyytin kypsän muodon sulautuessa yhteen (Kosek ym. 2001). Suvullisen lisääntymisen seurauksena muodostuu ookystia (Kosek ym. 2001, Taylor ym. 2007).

Ookystat muodostuvat noin 72 tunnin kuluttua suvullisen lisääntymisen vaiheesta (Taylor ym. 2007). Näitä ookystia muodostuu kahta eri tyyppiä: ohutseinäisiä sekä paksuseinäisiä ookystia (Taylor ym. 2007, Kosek ym. 2001). Ohutseinäiset ookystat jäävät suolistoon paksuseinäisten erittyessä ulosteen mukana ympäristöön (Kosek ym. 2001, Gookin ym. 2002, Taylor ym. 2007). Ohutseinäiset ookystat tunkeutuvat suolistossa uusiin epiteelisoluihin ja jatkavat siellä edellä kuvatulla tavalla lisääntymistä (Gookin ym. 2002). Ympäristöön eritetyt paksuseinäiset, ympäristöolosuhteiden muutoksia hyvin sietävät ookystat kulkeutuvat seuraavan isäntäeläimen suuhun aiheuttaen uuden *Cryptosporidium*-tartunnan (Gookin ym. 2002, Taylor ym. 2007).

2.2 Patofysiologia

Cryptosporidium parvum aiheuttaa ripulin tuhoamalla suoliston pintasolukkoa (Heine ym. 1984). *C. parvum* aiheuttaa muutoksia pintasolukon läpäisevyydessä sekä sen toiminnassa aiheuttaen solukuolemaa (Griffits ym. 1994, katsauksessa

Wyatt ym. 2010). Histologisesti havaitaan suolten villusten surkastumista, epiteelisolujen rappeutumista ja epäjärjestäytyneisyyttä (Heine ym. 1984).

Tarkkaa mekanismia *C. parvum* aiheuttamille muutoksille soluissa ei tiedetä (Boudiz ym. 2013). Monien eri tutkimusten tuloksena *C. parvumilla* on todettu olevan useita eri tekijöitä, jotka voisivat aiheuttaa solumuutokset (Boudiz ym. 2013). McCole ym. (2000) ehdottivat tutkimuksessaan, että *C. parvum* säätelee solukuoleman nopeutta hidastamalla sitä ehtiäkseen itse jakautua soluissa ennen solujen tuhoutumista.

Kryptosporidioosissa tärkeimpien ravintoaineiden imeytyminen heikkenee imeytymishäiriön seurauksena (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Neste imeytyy joko pitkälle kehittyneiden suolinukan pintasolujen kautta tai elektrolyyttien ja ravintoaineiden mukana (katsauksessa Gookin ym. 2002). Katsausartikkeleissaan Gookin ym. (2002) sekä Wyatt ym. (2010) totesivat *C. parvum* heikentävän molempien imeytymistapojen toimintaa. Pintasolut erittävät kryptosporidien vaikutuksen seurauksena kloridi-ioneja sekä bikarbonaatti-ioneja suoleen ja ne myös estävät suolinukan natriumkloridin imeytymistä (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Nämä elektrolyyttitasapainon muutokset aiheuttavat nesteen kerääntymisen suolistoon (katsauksessa Wyatt ym. 2010), jolloin syntyy *C. parvum* -infektioille tyypillinen ripuli (katsauksessa Gookin ym. 2002, katsauksessa Wyatt ym. 2010). Ripuliin menetetään elimistölle tarpeellista nestettä, minkä seurauksena vasikan elimistö kuivuu (katsauksessa Wyatt ym. 2010).

2.3 Naudan kryptosporidioosi

Kryptosporidioosi tarkoittaa *Cryptosporidium* -suvun alkueläinten aiheuttamaa sairautta (Ruokavirasto 2019d). *Cryptosporidium* spp ookystia tavataan kaiken ikäisten nautojen ulosteessa (Santin 2004, Fayer ym. 2006, Fayer ym. 2007, Taylor ym. 2007, Santin ym. 2008, Mirzai ym. 2014, Manyazewal ym. 2018). Tyypillisesti aikuiset naudat toimivat oireettomina kantajina (Mann ym. 1986, Fayer ym. 2000).

Tällöin ne erittävät ulosteeseensa ookystia, mutta eivät sairastu kliiniseen kryptosporidioosiin (Mann ym. 1986, Fayer ym. 2000).

Aikuisilla, yli kaksi vuotiailla naudoilla esiintyviä *Cryptosporidium* -lajeja ovat *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium andersoni* (Fayer ym. 2007, Mirzai ym. 2014, Manyazewal ym. 2018) sekä *Cryptosporidium bovis* (Fayer ym. 2007). Näiden lajien lisäksi 1-2 vuotiailla hiehoilla on todettu esiintyvän *Cryptosporidium suis* -alkueläintä (Fayer ym. 2006).

Santin ym. (2004) ja Santin ym. (2008) sekä Fayer ym. (2006) ja Fayer ym. (2007) selvittivät tutkimuksissaan eri *Cryptosporidium* -lajien esiintyvyyttä yhdysvaltalaisissa karjoissa. He jaottelivat karjan ikäryhmien mukaan vieroittamattomiin ja vieroitettuihin vasikoihin, 1-2 vuotiaisiin hiehoihin sekä yli kaksivuotiaisiin lehmiin. Tutkimuksissa määritettiin samoilla menetelmillä eri *Cryptosporidium* -lajien ookystien esiintyvyys eri ikäisten eläinten ulosteessa. Eri vuosina suoritettuihin tutkimuksiin osallistui myös samoja tiloja. Näissä tutkimuksissa todettiin kaikkien *Cryptosporidium* -lajien, mukaan lukien *C. parvum*, esiintyvyyden laskevan sitä alhaisemmaksi, mitä vanhempaa nautaryhmää tarkkailtiin. Vieroittamattomilla vasikoilla esiintyvyys oli jopa 50,3%. Vieroitetuilla vasikoilla esiintyvyys oli laskenut jo 19,3 prosenttiin. *C. parvumin* esiintyvyyden lasku jatkui edelleen sen ollessa 1-2 vuotiailla hiehoilla enää 0,07%. Tutkimussarjan viimeisessä tutkimuksen Fayer ym. (2007) totesivat lehmillä *C. parvumin* esiintyvyyden laskevan 0,4%:iin.

2.4 Vasikan kryptosporidioosi

Kryptosporidioosi tunnetaan maailmanlaajuisena vasikkaripulien aiheuttajana ja sen esiintyvyyttä eri ikäisillä vasikoilla on tutkittu laajasti (Santin ym. 2004, Santin ym. 2008, Mirzai ym. 2014, Björkman ym. 2015, Mawly ym. 2015, Manyazewal ym. 2018, Naquib ym. 2018, Santoro ym. 2018). Näissä tutkimuksissa vasikoilla tyypillisimmäksi kryptosporidioosin aiheuttajaksi todettiin *Cryptosporidium parvum* (Santin ym. 2004, Santin ym. 2008, Mirzai ym. 2014, Mawly ym. 2015, Manyazewal

ym. 2018, Naquib ym. 2018, Santoro ym. 2018). Vaikka Ruotsissa *C. parvum* ei ollut vasikoiden keskuudessa sen yleisimpi kuin muutenkaan *Cryptosporidium*-suvut (Björkman ym. 2015), on naapurimaistamme Virossa todettu *C. parvum*in olevan vasikoilla yleisin kryptosporidioosin aiheuttaja (Santoro ym. 2018). Vanhemmilla, jo vieroitetuilla vasikoilla *C. parvum*in osuus *Cryptosporidium* -suvun aiheuttamissa infektioissa laskee huomattavasti (Santin ym. 2004, Santin ym. 2018).

Vasikalla kryptosporidioosin oireena havaitaan tyypillisesti vetinen ripuli (katsauksessa Wyatt ym. 2010, Delafosse ym. 2015, Mawly ym. 2015, katsauksessa Thomson ym. 2017). Oireet alkavat yleensä 3-4 vuorokautta tartunnan jälkeen (katsauksessa Thomson ym. 2017). Ripulin keston on raportoitu vaihtelevan 4-16 vuorokauden välillä (Fayer ym. 1998), mutta yleisesti ripulioireiden kestonä on pidetty 1-2 viikkoa (katsauksessa Thomson ym. 2017). Oireiden vakavuus vaihtelee yksilöiden välillä: osalla ripuli voi olla hyvinkin vakava toisten toimiessa ookystien oireettomina erittäjinä (Silverlås ym. 2010, katsauksessa Wyatt ym. 2010, Björkman ym. 2015, Delafosse ym. 2015). *C. parvum* onkin yhdistetty myös vasikoiden lisääntyneeseen kuolleisuuteen (katsauksessa Wyatt ym. 2010, Delafosse ym. 2015, katsauksessa Thomson ym. 2017).

Ulosteen koostumuksen perusteella ei voida päätellä, onko vasikalla *C. parvum* -tartunta (Silverlås ym. 2010, Björkman ym. 2015, Delafosse ym. 2015). *C. parvum* -tartunnan ei ole todettu vaikuttavan myöskään ulosteen väriin (Björkman ym. 2015). Ookystia on havaittu sekä ripuloivien että oireettomien vasikoiden ulostenäytteissä (Silverlås ym. 2010, Björkman ym. 2015, Delafosse ym. 2015). Useimmat tutkimukset ovat kuitenkin todenneet, että ripuloivat vasikat erittävät ympäristöönsä enemmän ookystia kuin ripuloimattomat vasikat (Trotz-Williams ym. 2008, Delafosse ym. 2015, Garro ym. 2016).

C. parvum aiheuttaa vasikoille ripulin joko yksinään tai yhdessä muiden vasikkaripulia aiheuttavien patogeenien kanssa (Mawly ym. 2015). Näitä sekainfektioita on raportoitu sekä *Escherichia coli* -bakteerin, rotaviruksen,

coronaviruksen, salmonellan (Mawly ym. 2015) että *Cryptosporidium andersonin* kanssa (Manyazewal ym. 2018). Suurimassa osassa *C. parvum* aiheuttamista vasikkaripuleista *C. parvum* on ollut ainoa löydetty patogeeni (Mawly ym. 2015, Manyazewal ym. 2018).

2.5 Immunitaetti

C. parvum aiheuttama ripuli rajoittuu immunitaettiltaan eli vastustuskyvyltään normaaleilla yksilöillä itsestään (katsauksessa Petry ym. 2010). Lähinnä hiirillä tehdyissä tutkimuksissa on todettu elimistön rajaavan *C. parvum* -tartuntaa sekä synnynnäisen että hankitun immunitaetin avulla (katsauksessa Petry ym. 2010, katsauksessa McDonald ym. 2013). Näistä synnynnäinen immunitaetti rajaa tartuntaa, mutta tartunta voidaan täysin eliminoida vain hankitun immunitaetin avulla (katsauksessa McDonald ym. 2013).

IFN- γ -sytokiini sekä ohutsuolen epiteelisolut ovat todettu tärkeäksi osaksi sekä synnynnäistä että hankittua immunitaettia (katsauksessa Petry ym. 2010). Näistä IFN- γ -sytokiinit on todettu tärkeäksi *C. parvum* -tartunnoissa myös naudoilla tehdyissä tutkimuksissa (katsauksessa McDonald ym. 2013).

Synnynnäisessä immunitaetissa olennaisia tartuntaa rajaavia tekijöitä ovat ohutsuolen epiteelisolut, makrofagit ja neutrofiilit (katsauksessa Petry ym. 2010). *C. parvum* -tartunnan seurauksena ohutsuolen epiteelisolujen ajatellaan aktivoivan mekanismeja, jotka auttavat epiteelin rakenteen säilyttämisessä sekä *C. parvum* -ookystien tuhoamisessa (katsauksessa McDonald ym. 2013). Makrofagien ja neutrofiilien aineenvaihduntatuotteina muodostuvien typpioksidin vapaiden radikaalien on todettu vähentävän *C. parvum*-tartunnassa infektoituneiden epiteelisolujen ja eritettyjen ookystien määrää (katsauksessa Petry ym. 2010, katsauksessa McDonald ym. 2013). Lisäksi IFN- γ ohjaa makrofagien toimintaa (katsauksessa McDonald ym. 2013).

Hankittu immunitaetti vaikuttaa kryptosporidioositartunnassa lähinnä T-lymfosyyttien kautta, jotka tuottavat useita eri sytokiineja (katsauksessa Petry ym.

2010). Eri sytokiinien ja hankitun immuniteetin solujen merkitystä kryptosporidioositartunnan vastustamisessa ei tiedetä tarkalleen (katsauksessa Petry ym. 2010).

2.6 Zoonoottinen merkitys

Kryptosporidit aiheuttavat maailmanlaajuisesti tartuntoja myös ihmisillä (ECDC 2019). Sairastuneet ovat joko terveitä tai immuunipuutoksen aiheuttavasta taudista kärsiviä (ECDC 2019). Myös oirekuva vaihtelee oireettomasta tartunnasta vakavaan ripuliin (ECDC 2019). Yleensä ihmiset saavat tartunnan joko saastuneesta vedestä tai eläinten ulosteen välityksellä (ECDC 2019).

Suomessa kryptosporidi-infektiot ihmisillä ovat kymmenkertaistuneet 2000-luvun alusta vuoteen 2017 mennessä (Jaakola ym. 2018). Erityisesti Pohjanmaan alueella tartunnat ovat lisääntyneet ja lähteeksi epäillään nautakarjaa (Jaakola ym. 2018). Suomalaisen lisääntyneisiin kryptosporidioositartuntojen syyn selvittämiseen on haettu rahoitusta (Jaakola ym. 2018).

3 TARTUNTA

Vasikka saa tartunnan *Cryptosporidium*-ookystien joutuessa sen suuhun (Taylor ym. 2007). Tartunnasta ookystien erityksen alkuun kestää keskimäärin 3-6 vuorokautta (Fayer ym. 1998), mutta ajanjakson pituus on riippuvainen vasikan tartunnassa saamien ookystien määrästä (Zambriski ym. 2013a). Keskimäärin vasikat erittävät ulosteeseensa $1,05 \times 10^5$ ookystaa/gramma (Zambriski ym. 2013a). Vasikka voi kuitenkin erittää ympäristöönsä jopa $3,8 \times 10^6$ OPG (Björkman ym. 2015) kun puolet eläimistä saa oireettoman tartunnan altistuttuaan 5,8 ookystalle (Zambriski ym. 2013b). Zambriski ym. (2013b) tutkivat ripulioireiden alkamiseen ja ookystien erittämiseen vaadittavaa ookystamäärää. He altistivat vasikat useille eri annoksille pienimmän annoksen ollessa 25 ookystaa ja suurimman 1×10^6 ookystaa. Vasikat erittivät ookystia sekä ripuloivat pienimmälläkin altistusannoksella (Zambriski ym. 2013b). Vasikoista 50 %:lla ripulioireiden alkamiseen sekä ookystien erittämiseen vaadittiin keskimääräisesti 16,6 ookystaa (Zambriski ym. 2013b).

Tartunnan saatuaan vasikka erittää ookystia ympäristöönsä keskimäärin 6-9 vuorokauden ajan (Fayer ym. 1998). Mitä suurempi altistusannos on, sitä pidempään vasikat erittävät ookystia ulosteeseensa (Moore ym. 2003). Vasikoiden erittämien ookystien määrä noudattaa kaarevaa linjaa erityksen kasvaessa aluksi, mutta huipun saavutettuaan ookystien erityksen laskee (Zambriski ym. 2013a).

Suomessa vasikoilla tyypillisimpänä ikänä kryptosporidioosille on pidetty 1-2 viikon ikää (Ruokavirasto 2019a). Tutkimusten mukaan *C. parvum* -alkueläimen ookystia erittävätkin todennäköisimmin 7-15 (Delafosse ym. 2015) tai 8-16 vuorokauden ikäiset vasikat (Garro ym. 2016). Vasikka voi erittää *C. parvum* -alkueläimen ookystia kuitenkin jo neljän vuorokauden ikäisenä ja kryptosporidiumin ookystia on todettu jopa vuorokauden ikäisen vasikan ulosteessa (Björkman ym. 2015). Tällöin laji on kuitenkin ollut *Cryptosporidium bovis* (Björkman ym. 2015). Tämän jälkeen ookystien erityksen on todettu vähenevän niin, että noin kolmen viikon ikäisillä vasikoilla ookystien erityksen on todettu olevan vähäisintä (Delafosse ym. 2015, Garro ym. 2016).

3.1 Riskitekijät tartunnalle

Vasikoiden kryptosporidioosille altistavia riskitekijöitä on tutkittu laaja-alaisesti. (Roy ym. 2006, Delafosse ym. 2015, Garro ym. 2016). Esimerkiksi vuodenajan, sukupuolen, rodun sekä pitotavan merkitystä vasikan kryptosporidioosille on tutkittu useissa eri tutkimuksissa (Roy ym. 2006, Delafosse ym. 2015, Garro ym. 2016). Tutkimusten tulokset eroavat toisistaan ja useampi tutkimus on todennut varsinaisia riskitekijöitä olevan vain muutamia (Roy ym. 2006, Delafosse ym. 2015, Garro ym. 2016).

Vanhemmissa tutkimuksissa on havaittu kausittaisia eroja kryptosporidiumin ookestien erityksessä (Roy ym. 2006, Trotz-Williams ym. 2008), mutta uusimmissa tutkimuksissa eri vuodenaikojen välisiä ei ole todettu eroja (Mirzai ym. 2014, Delafosse ym. 2015). Mirzai ym. (2014) totesivat tutkimuksessaan sonnivasikoilla olevan merkittävästi suurempi alttius kryptosporidioosille kuin hiehovasikoilla kun taas Lallemond ym. (2006) havaitsivat hiehovasikoilla suuremman riskin sairastua *C. parvum* aiheuttamaan ripuliin. Uusimmassa tutkimuksessa sukupuolella ei todettu olevan merkitystä *C. parvum* -tartunnan suhteen (Delafosse ym. 2015). Olosuhteista kiinteän betonilattian todettiin ennaltaehkäisevän *C. parvum* -tartuntaa maapohjaan ja rutilälattiaan verrattuna (Mohammed ym. 1999). Myös Diaz ym. (2018) mukaan rutilälattialla elävät vasikat ovat todennäköisemmin *C. parvum* -positiivisia.

3.2 Tartuntalähteet

Kuten aiemmin todettiin, vasikka saa kryptosporidioosin ulosteen välityksellä. Kryptosporidioosin lisääntyessä Suomessa sekä uusien tartuntojen (Ruokavirasto 2019a) vuoksi on aiheellista tarkastella mahdollisia tartuntalähteitä hieman tarkemmin.

3.2.1 Ympäristö

Robertson ym. (1992) tutkivat *C. parvum* -ookystien säilyvyyttä ympäristössä. Ulosteeissa olevien ookystien säilymistä elinkykyisenä tutkittiin säilyttämällä *C. parvum* – positiivisiksi tutkittujen eläinten ulostetta pimeässä, 4°C lämpötilassa 178 vuorokautta (Robertson ym. 1992). Ookystien elinkykyä arvioitiin 0, 1, 5, 12, 20, 34, -48 ja 178 vuorokauden kuluttua näytteen keräämisestä. Eri eläinten ulostenäytteissä eläneiden ookystien elinkyvyissä oli eroja (Robertson ym. 1992). Kahdessa ulostenäytteessä (näytteet A ja B) kuolleiden ookystien osuus näytteessä esiintyvistä ookystista kasvoi vain 15-16% päivien 0 ja 48 välillä (Robertson ym. 1992). Kolmannessa (näyte C) ulostenäytteessä ookystien kuolleisuus kasvoi vain 8% 48 vuorokauden aikana (Robertson ym. 1992). Vastaavasti 178 vuorokauden jälkeen ookystien kuolleisuus oli A- ja B-näytteissä 93-100%, C-näytteen ookystien kuolleisuuden ollessa tällöin vain 41% (Robertson ym. 1992). Näin ollen Robertson ym. (1992) tutkimuksen perusteella ookystat voivat säilyä ulosteessa säilyttäen taudinaiheutuskykynsä jopa yli 178 vuorokautta.

Ihmisillä ympäristöperäiset tartunnat ovat yksi tärkeimmistä kryptosporidioositartunnan lähteistä (ECDC 2019). Veden välityksellä saatu ympäristöperäinen tartunta on aiheuttanut ihmisillä jo kymmeniä vuosia sitten isoja epidemioita (Smith ja Rose 1998). Tartunta vedestä on mahdollinen, kun vesi on kontaminoitunut ookystia sisältävällä ulosteella (Smith ja Rose 1998, Lewerin ym. 2019). Uudemmissa tutkimuksissa myös navetoiden ja laitumien ympäristöstä on löydetty *C. parvum* -kontaminoituneita vesiä (Toledo ym. 2017). Lewerin ym. (2019) selvittivätkin kokeellisessa tutkimuksessaan *C. parvum* -tartunnan leviämistä karjaan luonnonvesistöjen välityksellä. Vesistöissä todettiin esiintyvän tarpeeksi ookystia vasikoiden tartuntaa varten (Lewerin ym. 2019). Vasikoiden erittäessä ja sairastaessa kryptosporidioosia tulee niiden laiduntamista vesistöjen lähellä rajoittaa (Lewerin ym. 2019).

Toledo ym. (2017) ja Lewerin ym. (2019) suorittivat tutkimuksensa lämpimissä olosuhteissa. Ookystien säilyvyyttä kylmässä ja jäätyneessä vedessä on tutkittu jo aiemmin (Fayer ja Nerad 1996). Tutkimuksessa ookystat jäädytettiin vedessä -

10°C, -15°C, -20°C ja -70°C lämpötilaan 72-96 tunnin ajaksi. Tämän jälkeen tutkittiin ookystien taudinaiheutuskykyä hiirillä. Kylmimmässä, -70°C ookystat eivät säilyneet tartuntakykyisenä, mutta jopa -20°C olleet ookystat säilyttivät taudinaiheutuskykynsä (Fayer ja Nerad 1996). Myös Robertson ym. (1992) havaitsivat, ettei -22°C pakkanen ollut riittävä ookystien tuhoutumiseen. Lämpötilan on kuitenkin todettu olevan tärkeä tekijä ookystien selviytymisessä (katsauksessa Peng ym. 2008). Katsauksessaan Peng ym. (2008) totesivat korkeiden lämpötilojen olevan ratkaiseva tekijä ookystien tuhoutumiselle, sillä jo 35°C lämpötila aiheuttaa 3-log₁₀ aleneman elinkykyisinä säilyvien ookystien määrässä.

3.2.2 Naudat

Kryptosporidioosi on kokeellisesti tartutettu vasikasta toiseen ulosteen välityksellä jo vuonna 1981 (Moon ja Bemrick 1981). Tämän jälkeen vanhempien vasikoiden on todettu olevan tärkeä lähde vasikoiden *C. parvum* -tartunnoille (Huentink ym. 2001, Mirzai ym. 2014). Myös aikuisia nautoja on pidetty vasikoiden tartuntojen lähteenä (Huentink ym. 2001), vaikka vastapoikineiden nautojen ulosteesta ei ole kyetty määrittämään ookystia (Atwill ym. 1998, Keidel ym. 2013).

3.2.3 Muut eläinlajit

Smith ym. (2014) tutkivat linnuilla, jyrsijöillä sekä naudoilla esiintyviä *Cryptosporidium*-lajeja. Tutkimuksessa havaittiin, että linnuilla sekä naudoilla oli *C. parvum* aiheuttamia tartuntoja. Smith ym. (2014) eivät löytäneet tutkimuksessaan *C. parvum* -positiivisia jyrsijöitä, vaikka Feng (2010) totesi artikkelissaan hiirillä esiintyvän *C. parvum* -tartuntoja. Näiden tulosten perusteella sekä lintuja että jyrsijöitä voidaan pitää merkittävänä tautilähteenä nautojen tartunnoille (Smith ym. 2014). Jyrsijöiden ja lintujen (Smith ym. 2014) lisäksi myös muilla nisäkkäisiin kuuluvilla villieläinlajeilla on todettu *C. parvum* aiheuttamia tartuntoja (Feng 2010). Suomessa esiintyvistä lajeista näitä tartuntoja on todettu esimerkiksi jäniksillä sekä joillakin villimärehtijöillä, kuten valkohäntäpeuralla (Feng 2010).

Villieläinten lisäksi myös muut kotieläimet voivat sairastaa kryptosporidioosia (katsauksessa Bowman ja Lucio-Forster 2010, Galuppi ym. 2015). Kotieläimistä kissoilla ja koirilla on todettu kryptosporidioosin aiheuttamia tartuntoja (katsauksessa Bowman ja Lucio-Forster 2010). Kissoilla yleisesti esiintyvä laji on *Cryptosporidium felis* kun taas koirilla esiintyy tyypillisesti *Cryptosporidium canis* (katsauksessa Bowman ja Lucio-Forster 2010). Tartunta on näillä kotieläimillä yleensä oireeton, jolloin niiden uloste on koostumukseltaan normaalia ja niiden ulosteeseen erittämä ookystien määrä on pieni (katsauksessa Bowman ja Lucio-Forster 2010).

Sotiriadou ym. (2013) määrittivät kissojen ja koirien ulosteessa esiintyviä *Cryptosporidium* -lajeja PCR:n avulla. He löysivät sekä kissan että koiran ulosteesta *C. parvum* -ookystia. Koiria tutkittiin 81 ja kissoja 19, mutta kummastakin lajista löydettiin vain yksi *C. parvum* -positiivinen eläin (Sotiriadou ym. 2013). Kissoista tartunnan saaneita oli siis 5,3% (Sotiriadou ym. 2013) kun taas McReynolds ym. (1999) saivat kissojen veressä esiintyvien vasta-aineiden perusteella esiintyvyydeksi 8,3%. Tutkimuksessa esiintyvyys vaihteli alueittain. Koirilla vastaavasti *C. parvum* -positiivisten eläinten osuus oli ulostenäytteiden perusteella 1,2% (Sotiriadou ym. 2013).

Tuotantoeläimistä nautojen lisäksi *C. parvum*in aiheuttamia tartuntoja on tavattu hevosilla (Galuppi ym. 2015), lampailla ja vuohilla (Diaz ym. 2018). Toisin kuin vasikoilla ja vuohilla, lampailla *C. parvum* -positiivisten eläinten osuus kasvaa niiden vanhentuessa (Santin ym. 2004, Diaz ym. 2018, Santin ym. 2018). Hevosilla taas esiintyy tyypillisesti enemmän *Cryptosporidium horse* -genotyyppin aiheuttamia tartuntoja kuin *C. parvum* -tartuntoja (Galuppi ym. 2015). Hevosten ja vuohien *C. parvum* -tartunnoissa isolaatit ovat olleet alleeleja Ila ja Ild (Galuppi ym. 2015, Diaz ym. 2018). Lampailla todetuissa tartunnoissa on todettu esiintyvän eniten alleelia Ila (Diaz ym. 2018). Näistä isolaateista naudoilla esiintyy tyypillisesti alleeli Ila (Broglia ym. 2008). Tämän perusteella lampailla ja vuohilla esitetään olevan tärkeä rooli vasikoiden kryptosporidioositartunnoissa (Diaz ym. 2018).

3.2.4 Ihmiset

Zoonoottisuuden vuoksi nautojen *Cryptosporidium*-tartuntoja on pidetty tärkeänä lähteenä ihmisten kryptosporidioosille (Jaakola ym. 2018). Kuitenkin jo Moon ym. vuonna 1982 tartuttivat sikoja ihmisperäisillä kryptosporidioilla, joten myös nautojen ihmisperäistä tartuntaa on syytä tarkastella.

Dixon ym. (2011) tarkastelivat tutkimuksessaan zoonoottisten, saman genotyypin omaavien *Cryptosporidium* -lajien esiintymistä sekä ihmisillä että naudoilla. Heidän tuloksensa viittasivat siihen, että myös naudat voisivat saada ihmisistä tartunnan. Tartunnan ehdotettiin tapahtuvan joko suoraan ihmisistä, joilla on tartunta, tai välillisesti saastuneen veden välityksellä (Coklin ym. 2007, Dixon ym. 2011). Myöhemmin on todettu, että erityisesti *C. parvum* kanta Ilc tarttuu ihmisistä eläimiin (katsauksessa King ym. 2019). Länsimaista tätä kantaa on löydetty mm. Ruotsista, Englannista, Walesista sekä Alankomaista (katsauksessa King ym. 2019). *C. parvum* Ilc -kannan prosentuaalinen esiintyminen on ollut näissä maissa pieni (katsauksessa King ym. 2019). Ruotsissa kannan Ilc osuus *C. parvum*-tartunnoista oli 11% (katsauksessa King ym. 2019). Esiintyvyys oli 3-9 prosenttiyksikköä suurempi kuin muissa länsimaissa, joissa kannan esiintyvyyttä oli tutkittu (katsauksessa King ym. 2019). Vaikka Ilc kantaa pidetään eläinten ihmisperäisen tartunnan aiheuttajana, ei sitä ole kyetty eristämään vielä yhdeltäkään kryptosporidioosia sairastavalta eläimeltä (katsauksessa King ym. 2019).

4 DIAGNOSTIIKKA

Kryptosporidioosin diagnoosi perustuu yleisimmin ulostenäytteessä esiintyvien ookystien mikroskopointiin (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Mikroskopoimalla eri *Cryptosporidium*-lajit voidaan erottaa toisistaan ookystien koon ollessa erilainen eri lajeilla (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Vaikka mikroskopointi ei ole kaikkein luotettavin menetelmä alhaisen herkkyuden vuoksi, sen edullisuus, nopeus sekä helppous pitävät sen yhtenä yleisimpänä diagnosointikeinona (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Epidemiologisissa sekä tieteellisissä tutkimuksissa käytetään tutkimuskeinona polymeraasiketjureaktiota (polymerase chain reaction, PCR) (katsauksessa Wyatt ym. 2010). PCR antaa perinteistä mikroskopointia tarkempaa tietoa ookystistä sekä sen avulla *Cryptosporidiumin* eri lajit voidaan erottaa toisistaan ja niiden genotyypit voidaan määrittää (katsauksessa Wyatt ym. 2010).

Mikroskopoinnin ja PCR-tutkimuksen lisäksi kryptosporidioosi-tartuntoja diagnosoidaan vasta-ainetestien avulla (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Nämä vasta-aineet kertovat yleisesti *Cryptosporidium* -suvun ookystien ilmenemistä eläimessä, eivätkä ne kerro tarkasti tiettyjen *Cryptosporidium* -lajien esiintymisestä (katsauksessa Wyatt ym. 2010). Myös herkkyys vaihtelee eri vasta-aineisiin perustuvien testien välillä (katsauksessa Wyatt ym. 2010).

Ezzaty Mirhashemi ym. (2015) vertailivat eri tutkimuskeinojen tarkuutta nautojen kryptosporidioosi-tartuntojen diagnostiikassa. He tutkivat oireettomien eläinten ulostenäytteitä mikroskopoimalla Kinyoun-värjättyjä näytteitä, suoran immunofluoresenssin, entsyymivälitteisen immunosorbenttivärjäyksen (ELISA) sekä PCR:n avulla. Näistä vaihtoehtoista naudoilla luotettavimmaksi tutkimusmenetelmäksi todettiin suora immunofluoresenssi yhdistettynä Kinyoun-värjättyjen näytteiden mikroskopointiin (Ezzaty Mirhashemi ym. 2015).

4.1 Diagnostiikka suomalaisissa laboratorioissa

Suomessa nautojen kryptosporidioositartuntoja tutkitaan ulostenäytteistä Ruokaviraston laboratoriossa sekä Movet-laboratoriossa Kuopiossa (Ruokavirasto 2019c, Movet 2019). Ruokaviraston laboratoriossa ulostenäytteitä konsentroidaan, minkä jälkeen modifioidulla Ziehl-Nielsen tekniikalla värjätyt näytteet tutkitaan ookystien varalta mikroskoopilla (Enbom, henkilökohtainen tiedonanto). Mikäli mikroskopoinnissa havaitaan ookystia, näyte tutkitaan PCR-tutkimuksessa, jonka avulla tehdään ookystien lajimääritys eri *Cryptosporidium* -lajien erottamiseksi toisistaan (Enbom, henkilökohtainen tiedonanto).

Movet-laboratoriossa näytteet tutkitaan joko PCR-tutkimuksen tai pikatestin avulla (Movet 2019). Pikatestissä tutkitaan antigeenit kaikille zoonoottisille *Cryptosporidium*-lajeille, kun taas PCR-tutkimuksessa voidaan määrittää ainoastaan *Cryptosporidium parvum* -laji (Movet 2019). Antigeenit ovat *Cryptosporidium* -alkueläimen proteiineja, jotka saavat elimistön tuottamaan vasta-aineita.

4.2 Pikatestit

Navetassa tehtävään kryptosporidioosi-diagnoosiin on tarjolla pikatesti Fassisi BoDia (Fassisi 2019). Muita navetassa tehtäviä pikatestejä ei ole markkinoilla, mutta Movet markkinoi heidän laboratoriossaan tehtävää antigeenitutkimusta pikatestinä (Movet 2019). Sekä Movet-laboratorion pikatesti että Fassisi BoDia ovat ulosteessa esiintyviin antigeeneihin perustuvia menetelmiä (Fassisi 2019, Movet 2019). Antigeenit eivät kerro pelkästään *C. parvum* -lajin esiintyvyydestä vaan myös muista *Cryptosporidium* -lajeista (Movet 2009, Fassisi 2019).

Movet-laboratorion pikatestissä vastaus valmistuu näytteen saapumispäivänä (Movet 2019). Pikatestin herkkyydeksi kerrotaan 93,8% ja spesifisyydeksi 95,2% (Movet 2019). Nämä lukuarvot on saatu vertaamalla pikatestiä mikroskopointiin (Movet 2019), jonka herkkyys on alhainen (katsauksessa Wyatt ym. 2010).

Tarkempia tietoja tästä pikatestistä ei ole saatavilla Movetin pitäessä ne liikesalaisuutena (Henkilökohtainen tiedonanto: Movet 2019).

Fassisi BoDia -pikatestin avulla voi valmistajan mukaan määrittää navetassa vasikan vierellä ulostenäytteestä viisi eri taudinaiheuttajaa (Fassisi 2019). *Cryptosporidien* lisäksi pikatesti kertoo rotaviruksen, koronaviruksen sekä *Escherichia coli* K99 -bakteerin esiintymisestä ulostenäytteessä (Fassisi 2019). Pikatestiin tarvitaan vasikan ulostetta (Fassisi 2019). Uloste sekoitetaan pikatestin mukana tulevaan, reagenssia sisältävään koeputkeen. Koeputkesta seos tiputellaan testikasetille sille osoitettuun kohtaan (Fassisi 2019). Kymmenen minuutin kuluttua testikasetilta on luettavissa joko positiivinen tai negatiivinen tulos kullekin taudinaiheuttajalle (Fassisi 2019).

Fassisi BoDia -pikatestin määrittää kaikkien *Cryptosporidium* -lajien ulosteessa esiintyviä antigeenejä. Käyttöohjeessa kerrotaan pelkästään *C. parvum* -tartunnan testituloksen herkkyudeksi 99,99% ja tarkkuudeksi 95,85% (Fassisi 2019). Näiden arvojen määrittämisestä kerrotaan, että pikatestin verrokkina käytettiin ELISA-testiä (Fassisi 2019). Tuloksia tai tutkimusta käyttöohjeessa annettaviin arvoihin ei kuitenkaan ole julkaistu eikä pikatestin tarkkuudesta ja herkkyudesta ole tehty tieteellistä, vertaisarvioitua artikkelia.

5 HOITO

Vasikoiden kryptosporidioosin hoitoon on etsitty vuosien ajan laaja-alaisesti eri vaihtoehtoja (Fayer ja Ellis 1993, Lefay ym. 2001, Moore ym. 2003, Ollivett ym. 2009, Schnyder ym. 2009, Schaefer ym. 2016). Kryptosporidioosiin tehoavia lääkeaineita on etsitty niin antibioottien (Fayer ja Ellis 1993), kokkidiostaattien (Moore ym. 2003, Ollivett ym. 2009, Schnyder ym. 2009) kuin *C. parvum* entsyymien inhibiittoreiden (Schaefer ym. 2016) keskuudesta. Näistä osa on todettu toimiviksi osan tarvitessa vielä tarkempaa tutkimustietoa, eikä tähän päivään mennessä ole löydetty vasikoiden kryptosporidioosiin tehoavaa lääkettä (katsauksessa Thomson ym. 2017).

5.1 Antibiootit

Azithromysiini (Elitok ym. 2005) ja paromysiini (Fayer ja Ellis 1993, Grindberg ym. 2002) ovat antibiootteja, joiden tehoa vasikoiden kryptosporidioosiin on tutkittu. Elitok ym. (2005) tutkivat azithromysiinin vaikutusta vasikoiden kryptosporidioosiin jakamalla vasikat kuuteen eri ryhmään, joista yksi ryhmä ei saanut antibioottia, mutta muut ryhmät saivat joko 500 mg, 1000 mg, 1500 mg tai 2000 mg azithromysiiniä. Suurimmilla 1500 mg:n ja 2000 mg:n annoksilla azithromysiinin todettiin vähentävän ookystien eritystä ja lieventävän ripulioireita (Elitok ym. 2005). Sekä pienemmillä, 500 mg:n ja 1000 mg:n, että isommilla, 1500 mg:n ja 2000 mg:n annoksilla azithromysiinin todettiin parantavan vasikoiden päiväkasvua (Elitok ym. 2005).

Sekä Fayer ja Ellis (1993) että Grindberg ym. (2002) tutkivat paromysiinin kryptosporidioosia ennaltaehkäisevää vaikutusta, eivät paromysiinin kykyä hoitaa jo kryptosporidioosiin sairastuneita vasikoita. Paromysiinin ennaltaehkäisevää vaikutusta tutkittaessa vasikoista osa lääkittiin ja osa toimi kontrolliryhmänä, jolle ei annettu paromysiiniä (Fayer ja Ellis 1993, Grindberg ym. 2002). Fayer ja Ellis (1993) kokeilivat kolmen eri annoksen vaikutusta kun taas Grindberg ym. (2002) käyttivät vain yhtä annosta kontrolliryhmän lisäksi. Fayer ja Ellis (1993) totesivat

paromysiinin suurimmalla tutkimuksessa käytetyllä annoksella lyhentävän ripulin kestoa ja vakavuutta sekä vähentävän niiden päivien määrää, joina vasikka eritti ookystia sekä vähentävän eritettyjen ookystien määrää. Myöskään kahdella pienemmällä annoksella lääkityillä vasikoilla ripuli ei ollut niin vakava kuin kontrolliryhmän vasikoilla (Fayer ja Ellis 1993). Myös Grindberg ym. (2002) totesivat paromysiinin lieventävän ripulioireita ja vähentävän eritettyjen ookystien määrää. Paromysiinin annostelun loputtua sekä ripulioireet että eritettyjen ookystien määrä nousivat niin, että oireet olivat vakavempia kuin kontrolliryhmällä ja ookystia eritettiin enemmän kuin kontrolliryhmä (Grindberg ym. 2002). Paromysiinillä ei ole myyntilupaa eläimille (katsauksessa Thomson ym. 2017).

5.2 Kokkidiostaatit

Kokkidiostaatit ovat kokkideihin tehoavia lääkeaineita. Kokkidiostaateista nitazoxanidi -niminen lääkeaine tehoaa vastustuskyvyltään normaalien ihmisten *C. parvum* -tartuntoihin (katsauksessa Thomson ym. 2017). Nitazoxanidin vaikutusta myös vasikoiden kryptosporidioosiin on tutkittu (Ollivett ym. 2009, Schnyder ym. 2009). Schnyder ym. (2009) tutkivat nitazoxanidin ennaltaehkäisevää sekä hoitavaa vaikutusta kun taas Ollivett ym. (2009) ainoastaan hoitavaa vaikutusta. Tutkimusten kryptosporidioosin hoitovaikutuksia tutkittavissa ryhmissä käytetyt nitazoxanidi-annokset erosivat toisistaan (Ollivett ym. 2009, Schnyder ym. 2009). Kummassakin tutkimuksessa vasikoille annosteltiin nitazoxanidia kahdesti päivässä, mutta Ollivett ym. (2009) jatkoivat hoitoa viisi vuorokautta, kun taas Schnyder ym. (2009) 10 vuorokautta. Hoitojakson pituuden lisäksi annokset erosivat toisistaan, sillä Schnyder ym. (2009) käyttivät annosta 15mg/kg ja Ollivett ym. (2009) annosta 1,5g/vasikka. Myös tutkimusten tulokset erosivat toisistaan: Schnyder ym. (2009) ei havainnut nitazoxanidilla olevan vaikutusta vasikoiden kryptosporidioosiin kun taas Ollivett ym. (2009) havaitsivat lääkeaineen lyhentävän ookystien eritystä sekä parantavan ulosteen konsistenssia. Nitazoxanidia ei myöskään ole rekisteröity naudoilla käytettäväksi lääkeaineeksi (katsauksessa Thomson ym. 2017).

Nitazoxanidin lisäksi kokkidiostaateista on tutkittu decoquinate-lääkeaineen vaikutusta vasikoiden *C. parvum* -tartuntojen hoidossa (Moore ym. 2003). Decoquinateen on todettu vasikoilla vähentävän kokkidioosin aiheuttaman ripulin oireita sekä eritettävien kokkidi-ookystien määrää (Foreyt ym. 1986), minkä seurauksena Moore ym. (2003) ja Lallemond ym. (2006) tutkivat lääkeaineen vaikutusta myös vasikoiden kryptosporidioosiin. Tutkimuksissa vasikat altistettiin *C. parvumille* ja niitä hoidettiin erilaisilla decoquinate-annoksilla päivittäin. Kontrolliryhmään verrattuna vasikoiden erittämien ookystien määrä tai oireiden vakavuus ei vähentynyt kummassakaan tutkimuksessa (Moore ym. 2003, Lallemond ym. 2006). Toisin kuin Moore ym. (2003), Lallemond ym. (2006) havaitsivat decoquinateen nostavan vasikoiden päiväkasvua. Tämän ei kuitenkaan arveltu johtuvan lääkkeen vaikutuksesta *C. parvumiin*, sillä lääkkeellä ei ollut vaikutusta oireisiin eikä eritettävien ookystien määrään (Lallemond ym. 2006). Decoquinatesta ei siis ole hyötyä vasikoiden kryptosporidioosin hoidossa (Moore ym. 2003, Lallemond ym. 2006).

5.3 Inhibiittorit

Uusimmissa tutkimuksissa kryptosporidioosiin tehoava lääke on pyritty löytämään inhibiittorien eli *C. parvumin* toiminnan tai sen entsyymien toiminnan estäjien keskuudesta (Schaefer ym. 2016, katsauksessa Bhalchandra ym. 2018). Viime vuosina erityisesti bumped kinase -inhibiittoreista (BK-inhibiittorit) on toivottu löytyvän lääke niin ihmisten kuin eläintenkin kryptosporidioosin hoitoon (katsauksessa Bhalchandra ym. 2018). BK-inhibiittorit koostuvat useista eri yhdisteistä, jotka estävät kryptosporidioiden kalsiumriippuvaisten proteiinkanavien toimintaa (katsauksessa Bhalchandra ym. 2018). BK-inhibiittoreiden on todettu heikentävän *C. parvumin* aiheuttamaa ripulia sekä vähentävän ulosteeseen eritettyjen ookystien määrää (Schaefer ym. 2016, katsauksessa Bhalchandra ym. 2018). Positiivisista ominaisuuksista huolimatta BK-inhibiittoreilla on todettu olevan myös useita negatiivisia vaikutuksia, kuten solutoksisuus, sydäntoksisuus sekä sikiötoksisuus (katsauksessa Bhalchandra ym. 2018).

Ebselen on *C. parvum*in energia-aineenvaihdunnan entsyymien toimintaa estävä lääkeaine (Eltahan ym. 2018). Ebselen sitoutuu tähän *C. parvum*in entsyymiin joko pysyvästi tai palautuvasti riippuen ebselenin pitoisuudesta (Sarwono ym. 2019), jolloin *C. parvum*in kasvu hidastuu (Eltahan ym. 2018). Tutkimuksia ebselenistä *C. parvum* -tartuntojen hoidossa on tehty vasta muutamia (Eltahan ym. 2018, Sarwono ym. 2019), joten lisätietoa sen vaikutusmekanismeista ja toimivuudesta tarvitaan (Eltahan ym. 2018).

Kolmas kryptosporidioosin hoitoon kaavailtu inhibiittori on pyrazolopyridiini (katsauksessa Bhalchandra ym. 2018). Pyrazolopyridiinin on todettu vasikoilla heikentävän ripulia ja ripulin aiheuttamaa kuivumista (Manjunatha ym. 2017). Vaikka pyrazolonipyridiini heikentää oireita (Manjunatha ym. 2017), ei senkään ole kuvattu poistavan täysin kryptosporidioosin oireita (katsauksessa Bhalchandra ym. 2018).

5.4 Halofuginaatti

Vasikoiden kryptosporidioosin ennaltaehkäisyyn käytetään halofuginaattia (Lefay ym. 2001, katsauksessa Silverlås ym. 2009, Trotz-Williams ym. 2011). Halofuginaatti, kauppanimeltään Halocur, on synteettinen quinazolinoni, jolla tiedetään olevan vaikutus kryptosporidioihin ja muihin alkueläimiin (Lefay ym. 2001, katsauksessa Silverlås ym. 2009). Halofuginaatin kryptosporidioosia ennaltaehkäiseviä ominaisuuksia on tutkittu laajalti sen ollessa ainoa markkinoilla oleva kryptosporidioosiin saatavilla oleva valmiste, mutta sen tarkkaa vaikutusmekanismia ei tiedetä (Lefay ym. 2001, katsauksessa Silverlås ym. 2009). Sen epäillään vaikuttavan *Cryptosporidium*in elämänsyklinin merotsoiitti- ja sporotsoiitti -vaiheisiin (katsauksessa Thomson ym. 2017). Halofuginaatilla on todettu olevan vasikoiden *C. parvum* -tartunnoissa sekä ennaltaehkäiseviä että hoitavia ominaisuuksia (katsauksessa Silverlås ym. 2009).

Lallemond ym. (2006) tutkivat halofuginaatin hoitovaikutusta kryptosporidioosiin sairastuneilla vasikoilla. Tutkimuksessa 7-10 vuorokauden ikäiset vasikat saivat

halofuginaattia seitsemänä peräkkäisenä päivänä. Lääkittyjen vasikoiden oireiden vakavuudessa tai elimistön kuivumisasteessa ei havaittu eroa lääkitsemättömään kontrolliryhmään verrattaessa (Lallemond ym. 2006). Halofuginaatilla lääkittyjen vasikoiden todettiin kuitenkin erittävän kontrolliryhmää vähemmän ookystia ulosteeseensa (Lallemond ym. 2006). Katsauksessaan Silverlås ym. (2009) tutkivat meta-analyysin avulla Lallemond ym. (2006) tutkimuksen sekä muiden halofuginaatin hoitovaikutusta selvittäneiden tutkimusten ja niiden tulosten luotettavuutta. Tutkimusten tiedot todettiin meta-analyysin suhteen puutteellisiksi, eikä katsauksessa Silverlås ym. (2009) voitu tulkita näitä tuloksia.

5.5 Nestehoito

Kryptosporidioosin aiheuttaman ripulin seurauksena vasikka menettää runsaasti nesteitä, elimistö kuivuu, happamoituu, syntyy elektrolyyttipätasapaino sekä hypoglykemia eli glukoosivaje (katsauksessa Meganck ym. 2014). Edellä mainitut oireet voidaan hoitaa oikeanlaisella nestehoidolla, jota voidaan antaa joko suun kautta tai suonensisäisesti (katsauksessa Meganck ym. 2014).

Vasikan nesteytys suun kautta tulisi aloittaa heti ripulin alettua ja sitä tulisi jatkaa niin kauan, kun vasikalla ripulia esiintyy (katsauksessa Meganck ym. 2014). Nesteytykseen tulee käyttää pelkän veden lisäksi erilaisia suoloja sekä elimistön happamuutta vähentäviä valmisteita (katsauksessa Smith 2009, katsauksessa Meganck ym. 2014). Ratkaisevaa suun kautta annetussa nesteytyksessä on happamuutta vähentävien valmisteiden pitoisuus ja annetun nesteytyksen määrä (katsauksessa Meganck ym. 2014). Suun kautta annettavien elektrolyyttijuomien rinnalla maitojuottoa tulisi jatkaa normaalisti (katsauksessa Smith 2009).

Suun kautta annettavan nestehoidon lisäksi vasikalle tulee antaa suonensisäistä nesteytystä, mikäli vasikan imurefleksi on heikentynyt, vasikan elimistö on vakavasti kuivunut, vasikka on kylmettynyt (katsauksessa Berchtold 2009), vasikan juoksutusmaha on laajentunut tai suoliston liike on vähentynyt (katsauksessa Meganck ym. 2014). Suonensisäistä nesteytystä annettaessa nesteet tulee aina

lämmittää ensin ruumiinlämpöiseksi, jotta vasikka ei joudu käyttämään energiaa nesteen lämmittämiseen (katsauksessa Meganck ym. 2014). Happamuutta vähentävistä valmisteista suonensisäisesti voi antaa bikarbonaattia (katsauksessa Berchtold 2009, katsauksessa Meganck ym. 2014). Suonensisäisen nesteytyksen seurauksena vasikan tulisi virtsata 30-60 minuutin kuluessa, sen tulisi piristyä, elimistön kuivumisasteen pienentyä ja tärkeimpänä imurefleksin tulisi palautua (katsauksessa Berchtold 2009). Suonensisäisen nesteytyksen jälkeen vasikan juomista tulee seurata ja suun kautta annettavaa nestehoitoa tulee jatkaa (katsauksessa Berchtold 2009, katsauksessa Meganck ym. 2014).

5 KRYPTOSPORIDIOOSIN EHKÄISEMINEN

Kryptosporidioosin esiintyvyys Suomessa on ollut viime vuosina kasvussa (Ruokavirasto 2019b). Tautia on vaikea kontrolloida ookystien säilyessä ympäristöolosuhteissa hyvin, tartunta-annoksen ollessa matala ja sairastuneiden yksilöiden erittäessä suuria määriä ookystia (katsauksessa Thomson ym. 2017). Lisäksi markkinoilla ei ole kryptosporidioosiin tehoavaa lääkettä (katsauksessa Thomson ym. 2017), joten taudin ennaltaehkäisy erityisen tärkeää.

Ennaltaehkäisy perustuu sairastuneiden yksilöiden hoitoon (katsauksessa Shahiduzzaman ja Dauschies 2012) ja hyvään hygieniaan (katsauksessa Shahiduzzaman ja Dauschies 2012, katsauksessa Thomson ym. 2017). Näiden avulla pyritään vähentämään ympäristössä esiintyvien ookystien määrä ja estämään vasikoiden ookystien nieleminen ja näin myös tartunnan leviäminen (katsauksessa Shahiduzzaman ja Dauschies 2012).

6.1 Halofuginaatti

Halofuginaatti ennaltaehkäisee vasikoiden kryptosporidioosia vähentämällä eritettyjen ookystien määrää ja kryptosporidioosin oireita (Lefay ym. 2001, katsauksessa Silverlås ym. 2009, katsauksessa Thomson ym. 2017). Käytettäessä halofuginaattia ennaltaehkäisevänä hoitona vasikan tulisi saada ensimmäinen annos 48 tunnin kuluessa syntymästä, minkä jälkeen halofuginaatin antoa tulee jatkaa seitsemän vuorokautta (katsauksessa Thomson ym. 2017).

Halofuginaatin on todettu lieventävän kryptosporidioosin oireita parantamalla ulosteen koostumusta (katsauksessa Thomson ym. 2017). De Waele ym. (2010) vertailivat tutkimuksessaan halofuginaatin vaikutuksia käsittelemättömään verrokkiryhmään. Halofuginaatilla hoidettiin 17 vasikkaa, joista viidellä vasikalla ei todettu ripulia kaikkien kontrolliryhmän vasikoiden ripuloidessa (De Waele ym. 2010), mutta Trotz-Williams ym. (2011) eivät havainneet merkittävää eroa ripulin

esiintyvyydessä halofuginaattia saaneiden vasikoiden ja kontrolliryhmän välillä. Halofuginaatilla hoidetussa ryhmässä yksikään vasikka ei kuollut (De Waele ym. 2010, Trotz-Williams ym. 2011) eikä vasikoilla havaittu kuivumista, nuutuneisuutta tai ulosteessa limaa tai verta, kun taas kontrolliryhmästä kolme vasikkaa kuoli *C. parvum* -tartunnan seurauksena (De Waele ym. 2010). Tutkimustulokset halofuginaatin vaikutuksesta vasikoiden kasvuun ja painon kehitykseen ovat ristiriitaisia, sillä Trotz-Williams ym. (2011) totesivat halofuginaatilla olevan positiivinen vaikutus vasikoiden kasvuun, kun taas Niine ym. (2018) totesi halofuginaatin huonontavan vasikoiden painon kehitystä. Vaikka tieto halofuginaatin vaikutuksesta kasvuun on ristiriitaista (Trotz-Williams ym. 2011, Niine ym. 2018), on sen kuitenkin todettu pienentävän merkittävästi vasikoiden kuolleisuutta (Trotz-Williams ym. 2011). Tutkimuksessa verrattiin halofuginaatilla hoidettujen vasikoiden kuolleisuutta verrokkiryhmän hoitamattomiin vasikoihin. Vaikka halofuginaatilla hoidettujen vasikoiden kuolleisuus oli 40 prosenttiyksikköä pienempi kuin verrokkiryhmien vasikoilla, ei ero ollut tilastollisesti merkittävä (Trotz-Williams ym. 2011).

Halofuginaattia saaneiden vasikoiden erittämien ookystien määrän on todettu olevan verrokkiryhmiä alhaisempi (De Waele ym. 2010, Trotz-Williams ym. 2011). Annettaessa halofuginaattia yksittäiskarsinoissa oleville vasikoille on todettu näiden vasikoiden erittämien *C. parvum* -ookystien määrän olevan merkittävästi pienempi kuin ryhmäkarsinoissa olevilla vasikoilla (De Waele ym. 2010). Katsauksessaan Silverlås ym. (2009) todettiin vasikoiden erittämien ookystien määrän laskevan 4-7 vuorokauden ikäisillä vasikoilla. Kontrolliryhmiin verrattuna eritettävien ookystien määrä oli kuitenkin suurempi 21 vuorokauden ikäisillä vasikoilla, jolloin halofuginaatin käyttö ainoastaan viivästytti ookystien eritystä (katsauksessa Silverlås ym. 2009). Meta-analyysiä tukee myös tuoreempi tutkimus, jossa kontrolliryhmän avulla tutkittiin vasikoiden erittämien ookystien määrää (Niine ym. 2018). Myös tässä tutkimuksessa halofuginaatin todettiin viivästyttävän ookystien eritystä. Ookystien erityks kasvoi halofuginaattilääkityksen jälkeen erityksen ollessa suurimmillaan 16-27 vuorokauden ikäisillä vasikoilla (Niine ym. 2018). Eritettyjen ookystien määrä oli

tällöin suurempi kuin lääkitsemättömien vasikoiden erittämä määrä suurimmillaan (Niine ym. 2018).

6.2 Rokotukset

Keinoja *Cryptosporidiumin* ennaltaehkäisyyn on jo vuosia etsitty erilaisten rokotteiden parista (O'Connor ym. 2007, katsauksessa Thomson ym. 2017), sillä taudin ehkäisemisen lisäksi rokotteet vähentäisivät ympäristöön eritettyjen ookystien määrää (Tomazic ym. 2018). Mahdollisia rokotteita on etsitty erityisesti sellaisten ookystien pinnalla esiintyvien antigeenien joukosta, jotka vaikuttavat ookystien kykyyn tunkeutua isäntäsoluihin (O'Connor ym. 2007). Uusimmissa tutkimuksissa mahdollisia rokotteita on etsitty reverse vaccinology -tekniikan avulla (Tomazic ym. 2018). Tällöin rokotetta etsitään määrittämällä patogeenin genomi rokotteeksi käyvien antigeenien ja epitooppien selvittämiseksi (Del Tordello ym. 2017).

O'Connor ym. (2007) tutkivat *in vitro*, elimistön ulkopuolella, tehdyissä kokeissa pinta-antigeenin, GP60:n vaikutusta *C. parvum*iin. Tutkimuksessa havaittiin GP60:n neutralisoivan *C. parvum*in. Tomazic ym. (2018) taas vertailivat reverse vaccinology -tekniikan avulla määritettyjen GP60, CpH1 ja CpSUB1 -antigeenien aiheuttamaa immuunireaktiota vasikoissa. He keräsivät *Cryptosporidiumille* altistetuilta vasikoilta seeruminäytteitä, joista he tutkivat antigeenien ja niille muodostuneiden vasta-aineiden esiintyvyyttä. Kerättyjen seeruminäytteiden perusteella vasikoiden todettiin muodostavan vasta-aineita jokaista tutkittua antigeenia vastaan (Tomazic ym. 2018). CpH1- ja CpSUB1 -antigeeneja vastaan kaikki tai lähes kaikki vasikat muodostivat vasta-aineita nopeasti syntymän jälkeen, kun taas GP60-antigeenille osa vasikoista kehitti vasta-aineita vasta myöhemmissä vaiheissa (Tomazic ym. 2018). Tämän perusteella GP60-antigeenin lisäksi CpH1 ja CpSUB1 -antigeenejä ehdotettiin otettavaksi mukaan kehitettäessä rokotetta kryptosporidioosia vastaan (Tomazic ym. 2018).

6.3 Managementti

Managementti käsittää tilan toimintatavat, joilla voidaan ennaltaehkäistä vasikoiden *C. parvum* -tartuntaa (katsauksessa Meganck ym. 2014, katsauksessa Thomson ym. 2017). Kryptosporidioosin kannalta hyvään managementtiin kuuluvat riittävä ternimaidon saanti, vasikoiden ruokintatavat, pito-olosuhteet, hygienia, vasikoiden kokema stressi sekä käytetyt lääkkeet (katsauksessa Meganck ym. 2014). Näistä tärkeimpinä pidetään riittävää ternimaidon saantia (katsauksessa Meganck ym. 2014) sekä pito-olosuhteita ja hygieniaa (katsauksessa Thomson ym. 2017).

Hyvän hygienian avulla pyritään vähentämään ympäristön aiheuttamaa tartuntapainetta (katsauksessa Thomson ym. 2017). Tartuntapainetta voidaan vähentää desinfektion lisäksi tilojen pesun, ulosteiden siivoamisen ja likaisten kuivikkeiden vaihtamisen avulla (katsauksessa Thomson ym. 2017). Maddox-Hyttel ym. (2006) tutkivat *Cryptosporidium* -tartunnan riskitekijöitä tanskalaisissa karjoissa. He suosittelivat karsinan pitoa tyhjänä vasikoiden välissä, koska tällöin vasikoiden riski sairastua kryptosporidioosiin pieneni tutkimuksessa merkittävästi. Ympäristön aiheuttaman tautipaineen vaikutuksen totesivat myös Trotz-Williams ym. (2008) tutkiessaan *C. parvum* esiintyvyyden ja toimintatapojen välistä yhteyttä. Vasikoiden *C. parvum* -tartuntojen todettiin laskevan merkittävästi, kun vasikkakarsinat puhdistettiin ennen uusia vasikoita joko saippualla tai muulla pesuaineella (Trotz-Williams ym. 2008).

Muiden tekijöiden lisäksi vasikoiden ryhmittelyyn tulisi kiinnittää huomiota (katsauksessa Harp ja Goff 1998). Vastasyntyneet vasikat tulisi pitää omassa osastossaan eikä niitä saisi siirtää vanhempien vasikoiden sekaan (katsauksessa Meganck ym. 2014). Kryptosporidioosia sairastavat vasikat tulisi siirtää erilleen terveistä vasikoista, ideaalilanteessa jopa erilliseen rakennukseen (katsauksessa Harp ja Goff 1998). Vasikoita hoidettaessa tulisi ensin hoitaa terveet vasikat ja niillä tulisi olla omat, erilliset hoitovälineet sekä suojavaarusteet (katsauksessa Harp ja Goff 1998). Sairaiden vasikoiden hoitamisen jälkeen suojavaatteet tulisi vaihtaa ja hoitajien tulisi peseytyä (katsauksessa Harp ja Goff 1998).

6.3.1 Ternimaito

Lora ym. (2018) tutkivat ternimaidon välittämän passiivisen immunitetin vaikutusta vasikoiden ripuliin. Vasikoilta otettiin verinäytteitä, joista tutkittiin immunoglobuliinien eli vasta-aineiden pitoisuuksia (Lora ym. 2018). Ripuliin sairastuneilla tai kuolleilla vasikoilla vasta-ainetasojen todettiin olevan matalampia kuin terveillä vasikoilla. Tämän lisäksi matalien vasta-ainetasojen todettiin olevan yhteydessä *C. parvum* -tartuntaan (Lora ym. 2018). Nämä tutkimustulokset olivat linjassa aiempien tulosten kanssa ternimaidon tärkeydestä vasikoiden terveydelle (katsauksessa Meganck ym. 2014, Lora ym. 2018).

Lora ym. (2018) tutkivat vasta-ainepitoisuuksien vaikutusta vasikkaripuliin ternimaidon vaikutuksista olevien ristiriitaisten tutkimustulosten vuoksi. Vasikka saa passiivisen immunitetin ternimaidon välityksellä emoltaan (katsauksessa Meganck ym. 2014, Lora ym. 2018). Tämän epäonnistuessa vasikan vasta-ainetasot eivät nouse tarpeeksi korkealle (katsauksessa Meganck ym. 2014, Lora ym. 2018). Passiivisen immunitetin siirtymisen emältä vasikalle katsotaan epäonnistuneen, kun vasikan seerumin vasta-ainetasot ovat alle 10 g IgG/l (katsauksessa Meganck ym. 2014, Lora ym. 2018). Passiivisen immunitetin siirtymiseen vaikuttaa oleellisesti ternimaidon vasta-ainetasot, erityisesti immunoglobuliini G (IgG) -pitoisuus (katsauksessa Meganck ym. 2014). Mitä suurempi ternimaidon IgG-pitoisuus on, sitä laadukkaampana ternimaitoa pidetään (katsauksessa Meganck ym. 2014).

Arsenopoulos ym. (2017) tutkivat vasikoiden kryptosporidioosin aiheuttaman ripulin ja ternimaidon välistä yhteyttä. Vasikoiden saama ternimaidon laatu tutkittiin kolostrometrin avulla ja ternimaidot luokiteltiin vasta-ainepitoisuuksien perusteella kolmeen eri luokkaan (Arsenopoulos ym. 2017). Tutkimuksessa havaittiin, että mitä parempilaatuista ternimaitoa vasikat saivat, sitä kiinteämpi uloste niillä oli ja sitä vähemmän ne erittivät ookystiä. Myös ternimaidon määrän havaittiin vähentävän eritettyjen ookystien määrää (Arsenopoulos ym. 2017).

Arsenopoulostin ym. (2017) ja Loran ym. (2018) tutkimukset tukevat jo aiempia tuloksia, joiden mukaan vasikoiden saaman ternimaidon laatu ja määrä vaikuttavat vasikoiden *C. parvum*-tartuntojen määrään ja vakavuuteen. Vasikan tulisi saada juoda ternimaitoa niin paljon kuin ne haluavat 1-4 tunnin sisällä syntymästä (katsauksessa Meganck ym. 2014). Mitä kauemmin syntymästä menee ternimaidon saantiin, sitä laadukkaampaa ternimaitoa vasikka tarvitsee saadakseen hyvän passiivisen immuniteetin (katsauksessa Meganck ym. 2014).

6.4 Ympäristön desinfektio

Monet desinfektioaineet eivät tehoa *C. parvum*-ookystiin (katsauksessa Thomson ym. 2017). Katsauksen Casemore ja Watkins (1998) mukaan klooridioksidi ja otsoni inaktivoivat *C. parvum*-ookystia. Erilaisten klooriyhdisteiden, kuten klooridioksidin on todettu olevan tehokkaampia ookystien desinfioinnissa kuin pelkän kloorin (katsauksessa Casemore ja Watkins 1998). Kloorin ja otsonin tehoon vaikuttavat kuitenkin ympäristöolosuhteiden ookystille aiheuttama stressi (katsauksessa Casemore ja Watkins 1998). Ympäristötekijästä riippuen stressi joko tehostaa tai heikentää kloorin vaikutusta ookystiin (katsauksessa Casemore ja Watkins 1998). Otsonin on todettu olevan tehokkaampi käytettäessä sitä yhdessä muiden hapettimien kanssa kuin yksinään (katsauksessa Casemore ja Watkins 1998).

Kloorioksidi on ollut useita vuosia käytetyin desinfektioaine kryptosporidioositapauksissa (katsauksessa Casemore ja Watkins 1998, Soliman ym. 2018). Kuitenkin uusia kryptosporidioihin tehoavia desinfiointiaineita etsitään jatkuvasti (Zintl ym. 2010, Björkman ym. 2018, Soliman ym. 2018). Zintl ym. (2010) havaitsivat sammutetun kalkin eli kalsiumhydroksidin huonontavan ookystien elinvoimaisuutta. Tämän sekä ruotsalaisten tilojen käytännön kokemusten perusteella Björkman ym. (2018) suorittivat verrokkiryhmällisen tutkimuksen kalsiumhydroksidin desinfioivista vaikutuksista. Tuottajat seurasivat kalsiumhydroksidilla käsitellyissä karsinoissa olevien ja verrokkiryhmän vasikoiden oireita ja näitä vertailtiin toisiinsa (Björkman ym. 2018). Kalsiumhydroksidilla ei ollut vaikutusta ripulovien vasikoiden prosenttiosuuteen, mutta sen todettiin

myöhentävän ripulin alkamisajankohtaa merkittävästi (Björkman ym. 2018). Kalsiumhydroksidilla käsitellyissä karsinoissa eläneiden vasikoiden kuntoluokkia verrattiin verrokkiryhmiin vasikoiden ollessa 2-4 viikon ja 6-8 viikon ikäisiä (Björkman ym. 2018). Molemmissa ikäryhmissä verrokkiryhmän kuntoluokka todettiin kalsiumhydroksidilla käsitellyissä karsinoissa eläneiden vasikoiden kuntoluokkaa huonommaksi, mutta vain 6-8 viikon iässä kuntoluokkien ero oli tilastollisesti merkittävä (Björkman ym. 2018). Kalsiumhydroksidikäsittelyn todettiin näin ollen myöhentävän *C. parvum* aiheuttamaa ripulia ja parantavan vasikoiden kuntoluokkaa (Björkman ym. 2018).

Sammutetun kalkin lisäksi Soliman ym. (2018) tutkivat auringonvalon ultraviolettisäteilyn vaikutusta ookystiin. He vertailivat ultraviolettisäteilyn vaikutusta kloorin vaikutukseen altistamalla vedessä olevat ookystat kloorille ja ultraviolettisäteilylle. Auringon aiheuttaman ultraviolettisäteilyn todettiin tuhoavan vedessä oleva ookystat 8 tunnin aikana ookystien ollessa resistenttejä kloorin vaikutuksille (Soliman ym. 2018). Ympäristöolosuhteista ultraviolettisäteilyn lisäksi kuivuus tuhoaa tehokkaasti ookystia (Robertson ym. 1992). Huoneenlämmössä ilmakeivaus tuhosi kahdessa tunnissa 97 % ookystista (Robertson ym. 1992). Ilmakeivausta jatkettaessa ookystien kuolleisuus nousi nopeasti ja kaikki ookystat olivat kuolleet neljässä tunnissa (Robertson ym. 1992).

6.4.1 Suomessa käytettävät desinfektioaineet

Eläinten terveys ETT ry on tuotantoeläinten terveydenhuoltoon paneutunut valtakunnallinen yhdistys, joka on antanut ohjeistukseksi käyttää suomalaisilla kryptosporidioositiloilla desinfektioaineena joko Neopredisan- tai Kilcox EXTRA -kauppanimellä myytäviä valmisteita (ETT 2019). Neopredisanin vaikuttavana aineena toimii fenoliklorkresoli (ETT 2019). Klooriyhdisteiden vaikutus ookystiin todettiin edellisessä kappaleessa. Kilcox extra on desinfiointiaine, joka on fenolin, glutaraldehydin ja kvaternääristen ammoniumyhdisteiden yhdistelmä (ETT 2019). Iso-Britannian Ympäristö-, elintarvike- ja maaseutuasioiden ministeriö (Department for Environment Food & Rural Affairs, DEFRA) suosittelee Kilcox extraa

desinfiointiaineena havaittaessa tarttuvia tauteja (DEFRA 2019). Tässä listauksessa ei kuitenkaan mainita *Cryptosporidium* spp -alkueläimiä (DEFRA 2019).

7 POHDINTA

Kryptosporidioosin esiintyvyys suomalaisilla vasikoilla on viime vuosina kasvanut (Ruokavirasto 2019b). Karjan talouden kannalta tärkeää on ennaltaehkäistä uuden karjan sairastuminen kryptosporidioosiin, sillä kryptosporidioosi aiheuttaa taloudellisia tappioita karjassa vasikoiden kuolleisuuden ja huonontuneen kasvun vuoksi. Kryptosporidioosilta suojautuessa tulisi muistaa, että tartunta leviää ulosteen avulla. Vasikat erittävät ookystia vain ulosteeseen ja saadakseen tartunnan vasikan tulee myös niellä ookystia (Taylor ym. 2007). Vaikka tartunta-annos on hyvin pieni (Zambriski ym. 2013b), ei kryptosporidioosia voi pitää yhtä helposti leviävänä kuin osaa tarttuvista taudeista sen levitessä vain ulosteen välityksellä.

Kryptosporidioositartunnan voi saada useista eri lähteistä, sillä tartuntaa voivat kantaa useat eri eläinlajit ja ookystia esiintyy myös ympäristössä. Kotieläinten lisäksi myös rotat ja linnut tulisi ottaa huomioon mahdollisia tartuntalähteitä mietittäessä. Näillä eläinlajeilla esiintyviä *C. parvum* -tartuntoja ei kuitenkaan ole tutkittu Suomessa, joten todennäköisyyttä sille, että villieläimet tai kotieläimet toimisivat tartunnan levittäjinä suomalaisissa karjoissa ei tiedetä. Muiden eläinlajien levittämiä tartuntoja vastaan on kuitenkin helppo suojautua perinteisillä hyvän navettahygienian keinoilla. Tuhoeläimien torjunta, lintujen pesimisen esto sekä kotieläinten rajattu kulku navetassa auttavat paljon näiden eläinten levittämän kryptosporidioosin ennaltaehkäisemisessä.

Muiden eläinlajien lisäksi kryptosporidioosi voi levitä navetasta toiseen ostoeläinten mukana. Mitä nuorempi eläin on, sitä todennäköisemmin se erittää ulosteeseensa *C. parvum* -ookystia (Fayer ym. 1998, Fayer ym. 2006, Fayer ym. 2007). Vaikka nuoret eläimet ovat pääasiallisia kryptosporidioosin erittäjiä, on todettu, että myös osa aikuisista naudoista erittää pieniä määriä *C. parvum* -ookystia (Fayer ym. 1998, Fayer ym. 2006, Fayer ym. 2007). Tämän perusteella myös vanhempia ostoeläimiä olisi hyvä pitää karanteenissa ja erillään vasikkalasta mahdollisen tartunnan

ennaltaehkäisemiseksi. Kun kryptosporidioositila myy eläimiä uudelle, puhtaalle tilalle, tulisi harkita ulostenäytteen tutkimista *C. parvum* -tartunnan varalta.

Erilaisia *C. parvum* -kantoja on runsaasti, mutta Suomessa esiintyvää kantaa ei ole selvitetty. Naapurimaistamme Ruotsissa esiintyy *C. parvum* kanta Ilc, joka voi tarttua myös ihmisestä eläimeen (katsauksessa King ym. 2019). Vaikka tätä kantaa ei ole tavattu naudoilla, navetoiden ihmisliikenteen ollessa suurehko on kanta hyvä ottaa huomioon taudin ennaltaehkäisyä pohdittaessa. Ihmisten mukana *C. parvum* voi levitä huonon hygienian seurauksena esimerkiksi käsien välityksellä. Mahdollisena tartuntareittinä tällöin voi olla esimerkiksi ulosteen ja ookystien tahrimilla käsillä vasikoita hoitanut henkilö. Tartunta ihmisistä vasikoihin on ennaltaehkäistävissä suojavarusteiden käytön lisäksi pesemällä kädet navetasta poistuttaessa sekä sinne mentäessä.

Kryptosporidioositartuntojen diagnostiikassa käytetään monesti apuna pikatestejä. Fassisi BoDia -pikatestin käyttöohjeessa ilmoitetaan testin sensitiivisyys ja spesifisyys, jotka ovat verrattain korkeita. Nämä arvot on saatu vertaamalla pikatestiä ELISA-värijäykseen, eikä tuloksiin johtaneita tutkimuksia ole saatavilla (Fassisi 2019). Fassisi BoDia -pikatestiä käytettäessä tulee myös ottaa huomioon se, että testi reagoi kaikkiin *Cryptosporidium*-lajeihin (Fassisi 2019), ei pelkästään *C. parvumiin*. Movet-laboratorio ei liikesalaisuuksiin vedoten kerro Movetin pikatestin toimintaperiaatteesta. Movetin laboratoriokirjansa perusteella pikatestiä ei voida pitää luotettavana, sillä sen sensitiivisyys ja spesifisyys on mikroskopointia huonompi (Movet 2019). Vasikoiden kryptosporidioosia epäiltäessä voidaankin luotettavimpana pitää Ruokaviraston vasikkaripulipakettia. Vasikkaripulipaketin avulla voidaan poissulkea kryptosporidioosin erotusdiagnoosit. Näyte tutkitaan mikroskopoinnin lisäksi myös PCR:n avulla (Ruokavirasto 2019c).

Kryptosporidioosiin tehoavaa lääkitystä ei ole tähän mennessä löydetty. Viime vuosina tehdyissä tutkimuksissa on keskitytty etsimään rokotetta ennaltaehkäisemään kryptosporidioositartunnat niin vasikoilla kuin ihmisilläkin

(O'Connor ym. 2007, katsauksessa Thomson ym. 2017, Tomazic ym. 2018). Uusien tekniikoiden avulla on löydetty mahdollisia rokotteita (O'Connor ym. 2007, katsauksessa Thomson ym. 2017, Tomazic ym. 2018). Lupaavista tutkimustuloksista huolimatta tulee ottaa huomioon, etteivät rokotteet välttämättä ole tarpeeksi tehokkaita tai turvallisia käytettäväksi. Lisäksi tutkimukset rokotteista ovat hyvin varhaisessa vaiheessa, joten kestää vielä vuosia ennen kuin toimiva rokote saadaan markkinoille. Tätä ennen kryptosporidioosia vastaan suojautuessa tulee keskittyä hyvään ennaltaehkäisyyn taudin aiheuttamien haittojen minimoimiseksi. Kryptosporidioosin ehkäisemisen kulmakivinä toimivat hyvä managementti sekä oikeanlainen lääkitys (katsauksessa Meganck ym. 2014).

Tutkimustulokset ternimaidon vaikutuksesta vasikoiden kryptosporidioosissa ovat olleet ristiriitaisia (katsauksessa Meganck ym. 2018, Lora ym. 2019). Joidenkin tutkimusten mukaan IgG ei ole tärkeä tekijä *C. parvum* -tartuntojen ennaltaehkäisyssä (katsauksessa Meganck ym. 2014). Sekä Arsenopoulos ym. (2017) että Lora ym. (2019) totesivat kuitenkin tutkimuksissaan ternimaidosta olevan hyötyä sen vähentäessä kuolleisuutta, pienentäessä oireita sekä vähentäessä eritettävien ookystien määrää. Vaikka IgG:n vaikutus *C. parvumiin* vasikan suolistossa ei olisi niin suuri kuin muihin taudinaiheuttajiin, voidaan uusimpien tutkimustulosten ja niissä olleiden tutkimusasetelmien perusteella laadukkaan ternimaidon oikea-aikaista saantia pitää tärkeänä tekijänä kryptosporidioosin ennaltaehkäisyssä.

Halofuginaattia käytetään sekä hoitavana että ennaltaehkäisevänä keinona vasikoiden kryptosporidioosia vastaan (katsauksessa Silverlås ym. 2009). Näyttöä halofuginaatin hoitovaikutuksista voidaan pitää vaillinaisina, sillä katsauksessaan Silverlås ym. (2009) totesivat vain Lallemondin ym. (2006) tutkimuksen luotettavaksi. Lallemond ym. (2006) mukaan halofuginaatti vaikutti ainoastaan vasikoiden erittämien ookystien määrään, eikä varsinaisia hoitavia vaikutuksia todettu. Tämän perusteella halofuginaattia ei voi suositella käytettävän kryptosporidioosin hoidossa. Halofuginaatin ennaltaehkäisevistä vaikutuksista sen sijaan on runsaasti luotettavaksi luokiteltavaa tutkimusnäyttöä (katsauksessa

Silverlås ym. 2009). Halofuginaatin avulla voidaan vähentää kryptosporidioosin aiheuttamia oireita sekä vasikkakuolleisuutta (katsauksessa Silverlås ym. 2009).

Halofuginaatin käyttöä ei voida pitää ongelmattomana. Väärät annokset eivät joko tehoa halutulla tavalla (Niine ym. 2018) tai ne pahimmassa tapauksessa aiheuttavat vasikan kuoleman (Lefay ym. 2001). Halofuginaatin käyttö ohjeistuksesta poikkeavalla tavalla ei ole laskenut eritettyjen ookystien määrää tai vasikoiden oireilua (Niine ym. 2018). Lääkityksen hyöty annostusta tai antoaikaa muuttamalla voidaan näin ollen kyseenalaistaa tutkimusten perusteella ja ohjeistusten mukaista annostusta voidaan pitää suositeltavana.

Oikein käytettynä halofuginaatti vähentää ookystien eritystä, lieventää vasikoiden oireita sekä pienentää kuolleisuutta (Lefay ym. 2001, katsauksessa Silverlås ym. 2009, Niine ym. 2018). Vaikka halofuginaatin käyttö vähentää ookystien eritystä, ei ookystien erityks kukaan lakkaa kokonaan (Niine ym. 2018). Tämän lisäksi on huomioitava, että eritettävien ookystien määrä nousee lähes yhtä suureksi kuin lääkitsemättömien vasikoiden erittämä määrä halofuginaatin lopettamisen jälkeen (Niine ym. 2018). Tällöin yli seitsemän vuorokauden ikäiset vasikat aiheuttavat suurimman riskin kryptosporidioosin leviämisessä. Mikäli alle seitsemän vuorokauden ikäiset vasikat ovat kosketuksissa yli seitsemän vuorokauden ikäisiin vasikoihin voidaan niiden tautipainetta pitää normaalia suurempana. Alle viikon ikäiset vasikat ovat Suomessa usein yksilökarsinoissa, joten ryhmittelyn merkitys näiden kahden ikäryhmän välillä ei ole niin suuri. Vasikat kuitenkin pääsevät kosketuksiin vanhempiin vasikoihin ja yli viikon ikäisen vasikan uloste voi tahrata myös alle viikon ikäisen vasikan yksilökarsinaa. Näin ollen alle viikon ikäisten, lääkitystä saavien vasikoiden yksilökarsinat tulisi tautipaineen pienentämiseksi pitää erillään yli viikon ikäisten vasikoiden karsinoista.

Ryhmittelyn ja vasikoiden sijoittamisen lisäksi tulisi kiinnittää huomiota eri ikäisten vasikoiden hoitojärjestykseen ja -hygieniaan kryptosporidioosin leviämisen ennaltaehkäisemiseksi sekä halofuginaattia käyttävissä että lääkitsemättömissä

karjoissa. Vasikoiden käsittely ja hoitaminen olisi hyvä aloittaa nuorimmista vasikoista puhtailla välineillä. Pienempien vasikoiden hoidon jälkeen suojavaatetus ja hoitovälineet olisi hyvä vaihtaa tai vähintään pestä huolellisesti. Tällöin ookystien siirtyminen eri vasikkaryhmien ja vasikoiden välillä pysyy mahdollisimman pienenä ja vasikoiden tautipaine pienenee. Kun hoito aloitetaan nuorimmista puhtailla suojaruusteilla ja hoitovälineillä, nuorempiin vasikoiden kohdistuva tautipaine on mahdollisimman pieni. *C. parvum* zoonoottisuuden vuoksi hyvä hygienia on tärkeä myös vasikoita hoitavien ihmisten terveyden suojelemiseksi (ECDC 2019). Tartunnan välttämiseksi erityisesti halofuginaatilla hoidettuja välitysvasikoita tai hoitamattomia kryptosporidioosikarjan vasikoita käsittelevien ihmisten tulee kiinnittää huomiota suojavaatetukseen ja käsihygieniaan.

Ookystat säilyvät pitkään ulosteessa (Robertson ym. 1992) ja erilaisissa ympäristön lämpötiloissa (Fayer ja Nerald 1996, Toledo ym. 2017, Lewerin ym. 2019). Vasikkakarsinoiden puhtaana pito ja ulosteen siivoaminen vasikoiden välillä vähentävät vasikoiden elinympäristössä esiintyvien *C. parvum* -ookystien määrää. Koska ookystat ovat herkkiä kuumalle vedelle (katsauksessa Peng ym. 2008), on vasikkatilojen pesu kuumalla vedellä suotavaa tautipaineen pienentämiseksi. Pesun jälkeen karsinat tulee kuivattaa huolellisesti, sillä ookystat tuhoutuvat ilmakehässä neljässä tunnissa (Robertson ym. 1992). Mekaanisen puhdistuksen ja kuivattamisen lisäksi vasikkakarsinat tulee desinfioida. Desinfiointiaineista sammutetulla kalkilla on todettu vähentävän kryptosporidioosin oireita sekä parantavan vasikoiden kasvua (Björkman ym. 2018). Sammutetun kalkin hyötyjen ollessa tieteellisesti todistettu, on karsinoiden käsittely perinteisellä sammutetusta kalkista ja vedestä sekoitetulla kalkkivellillä perusteltua. Näin ollen on olemassa *C. parvum* -ookystiin tehoava desinfiointiaine, jota voi käyttää silloinkin, kun muita eläimiä on navetassa. Myös kalkkivelliä käytettäessä tulee huolehtia suojaruustuksesta sekä siitä, etteivät eläimet pääse nuolemaan kalkkivellillä maalattuja pintoja.

Huolimatta runsaasta määrästä tutkimuksia, kirjallisuuskatsausta kirjoitettaessa ei löytynyt tutkimuksia halofuginaatin lopettamisesta *C. parvum* -karjassa.

Managementin ollessa riittävällä tasolla vasikoiden suojaamiseksi *C. parvum* -tartunnalta lääkityksen lopettamista voidaan pitää kustannustehokkaana. Lääkitys lopetetaan tällä hetkellä suomalaisissa karjoissa kokemustiedon perusteella, joten tutkimustieto aiheesta olisi tarpeellista. Vaikka naapurimaistamme Ruotsissa ja Virossa (Björkman ym. 2015, Björkman ym. 2018, Niine ym. 2018) kryptosporidioosia on tutkittu, Suomessa ei ole tehty tutkimuksia vasikoiden kryptosporidioosista tai selvitetty Suomessa esiintyvää *C. parvum* -kantaa. Myöskään tietoa siitä, miksi kryptosporidioosi on lisääntynyt Suomessa viime vuosina tai mikä *C. parvumin* todellinen esiintyvyys suomalaisissa karjoissa on, ei ole. Kryptosporidioosin yleistyessä herääkin kysymys, mikä Suomessa liikkuva kanta on, ja onko Suomessa esiintyvällä kannalla vaikutusta kryptosporidioosiin esiintyvyyden kasvuun. Olemassa olevan kirjallisuuden avulla päätelmiä aiheesta ei voi tehdä, joten tarve kotimaiselle tutkimukselle on suuri.

8 LÄHDELUETTELO

Arsenopoulos K, Theodoridis A, Papadopoulos E. Effect of colostrum quantity and quality on neonatal calf diarrhoea due to *Cryptosporidium* spp. infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2017, 52:50–55.

Atwill ER, Harp JA, Jones T, Jardon PW, Checel S, Zylstra M. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection. *Am J Vet Res*. 1998, 59:1116–1121.

Bellosa M L, Nydam D V, Liotta J L, Zambriski J A, Linden T C, Bowman D D. A comparison of fecal percent dry matter and number of *Cryptosporidium parvum* oocysts shed to observational fecal consistency scoring in dairy calves. *J Parasitol*. 2011, 97:349–351.

Berchtold J. Treatment of Calf Diarrhea: Intravenous Fluid Therapy. *Vet Clin Food Anim*. 2009, 25:73–99.

Bhalchandra S, Cardenas D, Ward HD. Recent Breakthroughs and Ongoing Limitations in *Cryptosporidium* Research. *F1000Res*. 2018 3:7.

Björkman C, Lindström L, Oweson C, Ahola H, Troell K, Axén C. *Cryptosporidium* infections in suckler herd beef calves. *Parasitology*. 2015, 142:1108–1114.

Björkman C, von Brömssen C, Troell K, Svensson C. Disinfection with hydrated lime may help manage cryptosporidiosis in calves. *Vet Parasitol*. 2018, 264:58–63.

Brogli A, Reckinger S, Cacció SM, Nöckler K. Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in Germany. *Vet Parasitol*. 2008, 14:8–13.

Boudiz M, Hunter P R, Chalmers R M, Tyler K M. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clin Microbiol Rev*. 2013, 26:115–134.

Bowman DD, Lucio-Forster A. Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: veterinary and public health importance. *Exp Parasitol*. 2010, 124:121–127.

Casemore DP, Watkins J. Review of disinfection and associated studies on *Cryptosporidium*. 1998. <http://dwi.defra.gov.uk/research/completed-research/reports/dwi0805.pdf>. Haettu 19.5.2019.

Coklin T, Farber J, Parrington L, Dixon B. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. *Vet Parasitol*. 2007, 150:297–305.

Díaz P, Navarro E, Prieto A, Pérez-Creo A, Viña M, Díaz-Cao JM, López CM, Panadero R, Fernández G, Díez-Baños P, Morondo P. *Cryptosporidium* species in post-weaned and adult sheep and goats from N.W. Spain: Public and animal health significance. *Vet Parasitol*. 2018, 30:1–5.

Díaz P, Varcasia A, Pipia AP, Tamponi C, Sanna G, Prieto A, Ruiu A, Spissu P, Díez-Baños P, Morrondo P, Scala A. Molecular characterisation and risk factor analysis of *Cryptosporidium* spp. in calves from Italy. *Parasitol Res.* 2018, 117:3081–3090.

Dixon B, Parrington L, Cook A, Pintar K, Pollari F, Kelton D, Farber J. The potential for zoonotic transmission of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. from beef and dairy cattle in Ontario, Canada. *Vet Parasitol.* 2011, 10:20–26.

Delafosse A, Chartier C, Dupuy MC, Dumoulin M, Pors I, Paraud C. *Cryptosporidium parvum* infection and associated risk factors in dairy calves in western France. *Prev Vet Med.* 2015, 118:406–412.

Del Tordello E, Rappuoli R, Delany I. Reverse Vaccinology: Exploiting Genomes for Vaccine Design. Teoksessa: Koff WC, Modjarrad K (toim.) *Human Vaccines: Emerging Technologies in Design and Development.* 1.p. Academic Press. 2017:65–86.

Department for Environment Food & Rural Affairs. (DEFRA 2019) Defra approved disinfectant: when and how to use it. <https://www.gov.uk/guidance/defra-approved-disinfectant-when-and-how-to-use-it#disinfectant-use-for-notifiable-diseases>. Haettu 8.5.2019.

De Waele V, Speybroeck N, Berkvens D, Mulcahy G, Murphy TM. Control of cryptosporidiosis in neonatal calves: use of halofuginone lactate in two different calf rearing systems. *Prev Vet Med.* 2010, 96:143–151.

Elitok B, Özgül ME, Hüseyin P. Efficacy of azithromycin dihydrate in treatment of cryptosporidiosis in naturally infected dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 2005, 19:590–593.

Eltahan R, Guo F, Zhang H, Xiang L, Zhu G. Discovery of ebselen as an inhibitor of *Cryptosporidium parvum* glucose-6-phosphate isomerase (CpGPI) by high-throughput screening of existing drugs. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2018, 8:43–49.

Eläinten terveystietä ETT ry (ETT 2019) Kryptosporidioosi. <https://www.ett.fi/sisalto/kryptosporidioosi>. Haettu 7.5.2019.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC 2019). Facts about Cryptosporidiosis. <https://ecdc.europa.eu/en/cryptosporidiosis/facts>. Haettu 11.03.2019.

Ezzaty Mirhashemi M, Zintl A, Grant T, Lucy FE, Mulcahy G, De Waal T. Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. *Exp Parasitol.* 2015, 151-152:14–20.

Fayer R, Ellis W. Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *J Parasitol.* 1993, 79:771–774.

Fayer R, Gasbarre L, Pasquali P, Canals A, Almeria S, Zarlenga D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int J Parasitol.* 1998, 28:49–56.

Fayer R, Nerad T. Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol.* 1996, 62:1431–1433.

Fayer R, Trout J M, Graczyk T K, Lewis E J. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet Parasitol.* 2000, 93:103–112.

Fayer R, Santín M, Trout J M. Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. *Vet Parasitol.* 2007, 145:260–266.

Fayer R, Santín M, Trout J M, Greiner E. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1–2-year-old dairy cattle in the eastern United States. *Vet Parasitol.* 2006, 135:105–112.

Feng Y. *Cryptosporidium* in wild placental mammals. *Exp Parasitol.* 2010, 124:128–137.

Foreyt WJ, Rice DH, Wescott RB. Evaluation of lasalocid as a coccidiostat in calves: titration, efficacy, and comparison with monensin and decoquinate. *Am J Vet Res.* 1986, 47:2031–2035.

Galuppi R, Piva S, Castagnetti C, Iacono E, Tanel S, Pallaver F, Fioravanti ML, Zanoni RG, Tampieri MP, Caffara M. Epidemiological survey on *Cryptosporidium* in an Equine Perinatology Unit. *Vet Parasitol.* 2015, 30:10–18.

Garro AJ, Morici GE, Utgés ME, Tomazic ML, Schnittger L. Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina. *Parasite Epidemiology And Control.* 2016, 1:26–41.

Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA. Host responses to *Cryptosporidium* infection. *J Vet Intern Med.* 2002, 16:12–21.

Griffiths J K, Moore R, Dooley S, Keusch G T, Tzipori S. *Cryptosporidium parvum* Infection of Caco-2 Cell Monolayers Induces an Apical Monolayer Defect, Selectively Increases Transmonolayer Permeability, and Causes Epithelial Cell Death. *Infect Immun.* 1994, 62:4506–4514.

Grinberg A, Markovics A, Galindez J, Lopez-Villalobos N, Kosak A, Tranquillo VM. Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paromomycin sulphate. *Vet Rec.* 2002, 16:606–608.

Harp JA, Goff JP. Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *J Dairy Sci.* 1998, 81:289–94

Heine J, Pohlenz J F I, Moon H W, Woode G. N. Enteric Lesions and Diarrhea in Gnotobiotic Calves Monoinfected with *Cryptosporidium* Species. *J Infect Dis.* 1984, 150:768–775.

Huentink REC, van der Giessen JWB, Noordhuizen JPTM, Poeger HW. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Vet Parasitol.* 2001, 102:53–67.

Jaakola S, Lyytikäinen O, Rimhanen-Finne R, Salmenlinna S, Savolainen-Kopra C, Liitsola K, Jalava J, Toropainen M, Nohynek H, Virtanen M, Kuusi M, Salminen M. Tartuntataudit Suomessa 2017. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-343-148-5>. Haettu 11.03.2019.

King P, Tyler KM, Hunter PR. Anthroponotic transmission of *Cryptosporidium parvum* predominates in countries with poorer sanitation: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors.* 2019, 8:16.

Kosek M, Alcantara C, Lima AA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: an update. *Lancet Infect Dis.* 2001, 1:262–269.

Kvác M, Kouba M, Vitovec J. Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet Parasitol.* 2006, 137:202–209.

Fassisi. Käyttöohje: Fassisi BoDia pikatesti vasikkaripuliin. 2019.

Lallemond M, Villeneuve A, Belda J, Dubreuil P. Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Vet Rec.* 2006, 11:672–676.

Lefay D, Naciri M, Poirier P, Chermette R. Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Vet Rec.* 2001, 148:108–112.

Levine ND. Taxonomy and Review of the Coccidian Genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa) 1. *J Protozool.* 1984, 31:94–98.

Lewerin SS, Sokolova E, Wahlström H, Lindström G, Pers C, Strömqvist J, Sörén K. Potential infection of grazing cattle via contaminated water: a theoretical modelling approach. *Animal.* 2019, 7:1–8.

Lora I, Gottardo F, Contiero B, Dall Ava B, Bonfanti L, Stefani A, Barberio A. Association between passive immunity and health status of dairy calves under 30 days of age. *Prev Vet Med.* 2018, 152:12–15.

Maddox-Hyttel C, Langkjaer RB, Enemark HL, Vigre H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs--occurrence and management associated risk factors. *Vet Parasitol.* 2006, 10:48–59.

Manjunatha UH, Vinayak S, Zambriski JA, Chao AT, Sy T, Noble CG, Bonamy GMC, Kondreddi RR, Zou B, Gedeck P, Brooks CF, Herbert GT, Sateriale A, Tandel J, Noh

S, Lakshminarayana SB, Lim SH, Goodman LB, Bodenreider C, Feng G, Zhang L, Blasco F, Wagner J, Leong FJ, Striepen B, Diagana TT. A *Cryptosporidium* PI(4)K inhibitor is a drug candidate for cryptosporidiosis. *Nature*. 2017, 546:376–380.

Mann E D, Sekla L H, Nayar G P, and Koschik C. Infection with *Cryptosporidium* spp. in humans and cattle in Manitoba. *Can J Vet Res*. 1986, 50: 174–178.

Manyazewal A, Francesca S, Pal M, Gezahegn M, Tesfaye M, Lucy M, Teklu W, Getachew T. Prevalence, risk factors and molecular characterization of *Cryptosporidium* infection in cattle in Addis Ababa and its environs, Ethiopia. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2018, 13:79–84.

Mawly J A, Grinberg A, Prattley D, Moffat J, Marshall J, French N. Risk factors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Vet J*. 2015, 203:155–160.

McCole D F, Eckmann L, Laurent F, Kagnoff M F. Intestinal epithelial cell apoptosis following *Cryptosporidium parvum* infection. *Infect Immun*. 2000, 68:1710–1713.

McDonald V, Korbel DS, Barakat FM, Choudhry N, Petry F. Innate immune responses against *Cryptosporidium parvum* infection. *Parasite Immunol*. 2013, 35:55–64.

McReynolds CA, Lappin MR, Ungar B, McReynolds LM, Bruns C, Spilker MM, Thrall MA, Reif JS. Regional seroprevalence of *Cryptosporidium parvum*-specific IgG of cats in the United States. *Vet Parasitol*. 1999, 14:187–195.

Meganck V, Hoflack G, Opsomer G. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Vet Scand*. 2014, 56:75.

Mirzai Y, Yakhchali M, Mardani K. *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* infection in naturally infected cattle of northwest Iran. *Vet Res Forum*. 2014, 5:55–60.

Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol*. 1999, 1:1–13.

Moon HW, Bemrick WJ. Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. *Vet Pathol*. 1981, 18:248–255.

Moon HW, Schwartz A, Welch MJ, McCann PP, Runnels PL. Experimental fecal transmission of human cryptosporidia to pigs, and attempted treatment with an ornithine decarboxylase inhibitor. *Vet Pathol*. 1982, 19:700–707.

Moore DA, Atwill ER, Kirk JH, Brahmabhatt D, Herrera Alonso L, Hou L, Singer MD, Miller TD. Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *J Am Vet Med Assoc*. 2003, 15:839–45.

Naguib D, El-Gohary A H, Mohamed A A, Roellig D M, Arafat N, Xiao L. Age patterns of *Cryptosporidium* species and *Giardia duodenalis* in dairy calves in Egypt. *Parasitol Int.* 2018, 67:736–741.

Niine T, Dorbek-Kolin E, Lassen B, Orro T. *Cryptosporidium* outbreak in calves on a large dairy farm: Effect of treatment and the association with the inflammatory response and short-term weight gain. *Res Vet Sci.* 2018, 117:200–208.

Ollivett TL, Nydam DV, Bowman DD, Zambriski JA, Bellosa ML, Linden TC, Divers TJ. Effect of nitazoxanide on cryptosporidiosis in experimentally infected neonatal dairy calves. *J Dairy Sci.* 2009, 92:1643–1648.

O'Connor RM, Wanyiri JW, Cevallos AM, Priest JW, Ward HD. *Cryptosporidium parvum* glycoprotein gp40 localizes to the sporozoite surface by association with gp15. *Mol Biochem Parasit.* 2007, 156:80–83.

Peng X, Murphy T, Holden NM. Evaluation of the Effect of Temperature on the Die-Off Rate for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Water, Soils, and Feces. *Appl Environ Microb.* 2008, 74:7101–7107.

Petry F, Jakobi V, Tessema TS. Host immune response to *Cryptosporidium parvum* infection. *Exp Parasitol.* 2010, 126:304–309.

Robertson LJ, Campbell AT, Smith HV. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Appl Environ Microb.* 1992, 58:3494–3500.

Roy SS, Sarkar S, Batabyal S, Pramanik AK. Observations on the epidemiology of bovine cryptosporidiosis in India. *Vet Parasitol.* 2006, 141:330–333.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019a). *Cryptosporidium parvum* - zoonoottinen vasikkaripulin aiheuttaja. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/naudat/kryptosporidit/>. Haettu 23.01.2019.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019b). Kryptosporidilöydökset naudoilla v. 2005 lähtien. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/naudat/kryptosporidit/>. Haettu 23.01.2019.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019c). Ruokaviraston hinnasto. <https://palvelut2.evira.fi/hinnasto/palvelu/?id=10258&lang=fi>. Haettu 23.03.2019.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019d). Zoonoosit, loisten aiheuttaman taudit, kryptosporidioosi. <https://www.ruokavirasto.fi/teemat/zoonoosikeskus/zoonoosit/loisten-aiheuttamat-taudit/kryptosporidioosi/>. Haettu 02.02.2019.

Santín M, Trout J M, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet Parasitol.* 2004, 122:103–117.

- Santín M, Trout J M, Fayer R. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet Parasitol.* 2008, 155:15–23.
- Santoro A, Dorbek-Kolin E, Jeremejeva J, Tummeleht L, Orro T, Jokelainen P, Lassen B. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* spp. in calves in Estonia: high prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding and 10 subtypes identified. *Parasitology.* 2018, 8:1–7.
- Sarwono AEY, Mitsuhashi S, Kabir MHB, Shigetomi K, Okada T, Ohsaka F, Otsuguro S, Maenaka K, Igarashi M, Kato K, Ubukata M. Repurposing existing drugs: identification of irreversible IMPDH inhibitors by high-throughput screening. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2019, 34:171–178.
- Schaefer DA, Betzer DP, Smith KD, Millman ZG, Michalski HC, Menchaca SE, Zambriski JA, Ojo KK, Hulverson MA, Arnold SL, Rivas KL, Vidadala RS, Huang W, Barrett LK, Maly DJ, Fan E, Van Voorhis WC, Riggs MW. Novel Bumped Kinase Inhibitors Are Safe and Effective Therapeutics in the Calf Clinical Model for Cryptosporidiosis. *J Infect Dis.* 2016, 15:1856–1864.
- Schnyder M, Kohler L, Hemphill A, Deplazes P. Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Vet Parasitol.* 2009, 9:149–54.
- Shahiduzzaman Md, Dauschies A. Therapy and prevention of cryptosporidiosis in animals. *Vet Parasitol.* 2012, 188:203–214.
- Silverlås C, de Verdier K, Emanuelson U, Mattsson JG, Björkman C. *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitol Res.* 2010, 107:1435–44.
- Smith GW. Treatment of Calf Diarrhea: Oral Fluid Therapy. *Vet Clin Food Anim.* 2009, 25:55–72.
- Smith HV, Rose JB. Waterborne cryptosporidiosis: current status. *Parasitol Today.* 1998, 14:14–22.
- Smith RP, Clifton-Hadley FA, Cheney T, Giles M. Prevalence and molecular typing of *Cryptosporidium* in dairy cattle in England and Wales and examination of potential on-farm transmission routes. *Vet Parasitol.* 2014, 29:111–119.
- Soliman A, El-Adawy A, Abd El-Aal AA, Elmallawany MA, Nahnoush RK, Eiaghni ARA, Negm M1S, Mohsen A. Usefulness of Sunlight and Artificial UV Radiation Versus Chlorine for the Inactivation of *Cryptosporidium* Oocysts: An in Vivo Animal Study. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018, 6:975–981.
- Sotiriadou I, Pantchev N, Gassmann D, Karanis P. Molecular identification of *Giardia* and *Cryptosporidium* from dogs and cats. *Parasite.* 2013, 20:8.
- Taylor M A, Coop R L, Wall R L. *Veterinary Parasitology.* 3. p. Blackwell Publishing, Oxford, Iso-Britannia 2007.

Thomson S, Hamilton CA, Hope JC, Katzer F, Mabbott NA, Morrison LJ, Innes EA. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Vet Res.* 2017, 11:42.

Toledo RD, Martins FD, Ferreira FP, de Almeida JC, Ogawa L, Dos Santos HL, Dos Santos MM, Pinheiro FA, Navarro IT, Garcia JL, Freire RL. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PLoS One.* 2017, 12:e0175311. doi: 10.1371/journal.pone.0175311

Tomazic ML, Rodriguez AE, Lombardelli J, Poklepovich T, Garro C, Galarza R, Tiranti K, Florin-Christensen M, Schnittger L. Identification of novel vaccine candidates against cryptosporidiosis of neonatal bovines by reverse vaccinology. *Vet Parasitol.* 2018, 264:74–78.

Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Peregrine AS, Duffield TF, Leslie KE. Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in dairy calves. *Vet Rec.* 2011, 14:509.

Trotz-Williams LA, Wayne Martin S, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev Vet Med.* 2008, 82:12–28.

Tzipori S, Smith M, Halpin C, Angus K W, Sherwood D, Campbell I. Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. *Vet Rec.* 1983, 112:116–120.

Wyatt, C. R., Riggs, M. W., & Fayer, R. Cryptosporidiosis in neonatal calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice.* 2010, 26:89–103.

Xiao L, Morgan UM, Limor J, Escalante A, Arrowood M, Shulaw W, Thompson RC, Fayer R, Lal AA. Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl Environ Microbiol.* 1999, 65:3386–3391.

Zambriski JA, Nydam DV, Bowman DD, Bellosa ML, Burton AJ, Linden TC, Liotta JL, Ollivett TL, Tondello-Martins L, Mohammed HO. (Zambriski ym. 2013a) Description of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in experimentally challenged dairy calves. *Parasitol Res.* 2013, 112:1247–1254.

Zambriski JA, Nydam DV, Wilcox ZJ, Bowman DD, Mohammed HO, Liotta JL. (Zambriski ym. 2013b). *Cryptosporidium parvum*: determination of ID₅₀ and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Vet Parasitol.* 2013, 18:104–112.

Zintl A, Keogh B, Ezzaty-Mirhashemi M, De Waal T, Scholz D, Mulcahy G. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in the presence of hydrated lime. *Vet Rec.* 2010, 166:297–300.